

ARCHIV
FÜR
MIKROSKOPISCHE ANATOMIE
UND
ENTWICKLUNGSMECHANIK

FORTSETZUNG VON
ROUX^s ARCHIV FÜR ENTWICKLUNGSMECHANIK
UND
SCHULTZE-WALDEYER-HERTWIG^s
ARCHIV FÜR MIKROSKOPISCHE ANATOMIE

HERAUSGEGEBEN VON
WILHELM ROUX

UNTER MITWIRKUNG VON
H. BRAUS UND **H. SPEMANN**

98. BAND

MIT 255 TEXTABBILDUNGEN, 17 KURVEN UND 2 TAFELN



BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1923

JUN 29 1923

ARCHIV
FÜR
MIKROSKOPISCHE ANATOMIE
UND
ENTWICKLUNGSMECHANIK

FORTSETZUNG VON
ROUX'S ARCHIV FÜR ENTWICKLUNGSMECHANIK
UND
SCHULTZE-WALDEYER-HERTWIG'S
ARCHIV FÜR MIKROSKOPISCHE ANATOMIE

HERAUSGEGEBEN VON
WILHELM ROUX
UNTER MITWIRKUNG VON
H. BRAUS UND **H. SPEMANN**

98. BAND 1./2. Heft
MIT 160 TEXTABBILDUNGEN
AUSGEGEBEN AM 16. MAI 1923



BERLIN
VERLAG VON JULIUS SPRINGER
1923

Das Archiv für mikroskopische Anatomie und Entwicklungsmechanik der Organismen

steht offen allen noch nicht publizierten exakten Forschungen über die mikroskopische Anatomie der Lebewesen und über die Ursachen aller Lebensgestaltungen einschließlich der Vererbungs- und Variationsforschung.

Das Archiv erscheint zur Ermöglichung raschster Veröffentlichung in zwanglosen einzeln berechneten Heften; mit etwa 40 Bogen wird ein Band abgeschlossen.

Der für diese Zeitschrift berechnete Bandpreis hat seine Gültigkeit nur während der Dauer des Erscheinens. Nach Abschluß eines jeden Bandes tritt eine wesentliche Erhöhung ein.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten, welche nicht mehr als 24 Druckseiten Umfang haben, 100 Sonderabdrücke, von größeren Arbeiten 60 Sonderabdrücke unentgeltlich. Darüber hinaus bestellte Exemplare werden berechnet. Die Herren Mitarbeiter werden in ihrem eigenen Interesse dringend gebeten, sich wenn irgend möglich, mit der kostenfrei zur Verfügung gestellten Anzahl zu begnügen, und, falls mehr Exemplare unbedingt erforderlich sind, deren Kosten vorher vom Verlage zu erfragen, um unliebsame Überraschungen zu vermeiden.

Mit Rücksicht auf die derzeitigen sehr schwierigen Verhältnisse werden die Mitarbeiter gebeten, auf möglichst knappe Fassung und auf Beschränkung der Abbildungen Bedacht zu nehmen. Bloß das Wichtigste und schwer Beschreibbare bedarf der bildlichen Darstellung. Zugleich werden sie ersucht, auf bereits in einem der beiden Archive oder in den verbreiteten »Ergebnissen« und Monographien befindliche Literaturverzeichnisse zu verweisen und nur die neuere Literatur genau anzugeben.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an
Geheimrat Professor Dr. W. Roux, Halle a. S., Reichardtstraße 20.

Der Herausgeber.

**Verlagsbuchhandlung Julius Springer
in Berlin, Linkstraße 23/24.**

| 98. Band | Inhaltsverzeichnis | 1./2. Heft Seite |
|--|--------------------|---------------------|
| Hörstadius, Sven , Physiologische Untersuchungen über die Eireifung bei <i>Pomatoceros triqueter</i> L. Mit 4 Textabbildungen | | 1 |
| Novak, J. und Elsinger, K. , Über künstlich bewirkte Teilung des unbefruchteten Säugetiereies. Mit 26 Textabbildungen | | 10 |
| Hammar, J. Aug. , Über Vitalfärbung, sowie hormonale und überhaupt humorale Beeinflussung des wachsenden Vogelembryos im Ei. Mit 2 Textabbildungen | | 48 |
| Polowzow, Wera , Über die Wirkung der Alkoholnarkose auf die Entwicklung der Seeigelleier (<i>Strongylocentrotus lividus</i>). Mit 36 Textabbildungen | | 68 |

Fortsetzung auf der 3. Umschlagseite.

Med.
Herr.

Inhalt des achtundneunzigsten Bandes

Erstes und zweites Heft

Ausgegeben am 16. Mai 1923

Seite

| | |
|--|-----|
| Hörstadius, Sven , Physiologische Untersuchungen über die Eireifung bei <i>Pomatoceros triquetus</i> L. Mit 4 Textabbildungen | 1 |
| Novak, J. und Elsinger, K. , Über künstlich bewirkte Teilung des unbefruchteten Säugetiereies. Mit 26 Textabbildungen | 10 |
| Hammar, J. Aug. , Über Vitalfärbung, sowie hormonale und überhaupt humorale Beeinflussung des wachsenden Vogelembryos im Ei. Mit 2 Textabbildungen | 48 |
| Polowzow, Wera , Über die Wirkung der Alkoholnarkose auf die Entwicklung der Seeigelleier (<i>Strongylocentrotus lividus</i>). Mit 36 Textabbildungen | 68 |
| Taube, Erwin , Über die histologischen Vorgänge bei der Regeneration von Tritonen mit Beteiligung ortsfremder Haut. Mit 19 Textabbildungen | 98 |
| Voss, Hermann , Studien zur künstlichen Entwicklungserregung des Froscheies. II. Experimenteller Beitrag zur künstlichen Entwicklungserregung des Froscheies durch mechanische Einwirkung | 121 |
| Mršić, Wilhelm , Die Spätbefruchtung und deren Einfluß auf Entwicklung und Geschlechtsbildung, experimentell nachgeprüft an der Regenbogenforelle. Mit 22 Textabbildungen und 7 Tabellen | 129 |
| Gräper, Ludwig , Determination und Differenzierung. | 210 |
| Herwerden, M. A. van , Der Einfluß der Nebennierenrinde auf das Wachstum und die Fruchtbarkeit von <i>Daphnia pulex</i> . Mit 29 Textabbildungen | 221 |
| Münzer, Franz Theodor , Über die Zweikernigkeit der Leberzellen | 249 |
| Perfiljew, P. , Über den Mechanismus der Kiemenautotomie bei den Larven einiger Libellen. Mit 3 Textabbildungen | 283 |
| Goldschmidt, Richard , Einige Materialien zur Theorie der abgestimmten Reaktionsgeschwindigkeiten. Mit 19 Textabbildungen | 292 |
| Ehrung. Dr. Kammerer | 214 |

Drittes und viertes Heft

Ausgegeben am 12. Juli 1923

Seite

| | |
|--|-----|
| Scheminazky, Ferd. , Über den Einfluß dauernder elektrischer Durchströmung auf Lebewesen. (Elektrokultur.) I. Mitteilung. Versuche an Fischen. Mit 7 Textabbildungen | 315 |
| Hempelmann, F. , Kausal-analytische Untersuchungen über das Auftreten vergrößerter Borsten und die Lage der Teilungszone bei <i>Pristina</i> . Mit 9 Textabbildungen und 1 Kurve | 379 |
| Giglio-Tos, Ermanno , Entwicklungsmechanische Studien. II. Teil. Die <i>Coeloblastula</i> . Mit 12 Textabbildungen | 446 |
| Alberti, Walther , Zur Frage der Linsenregeneration bei den Teleosteen. Mit 4 Textabbildungen | 496 |
| Herwerden, M. A. van , Der Einfluß von kleinen Quantitäten Nebennierenrinde des Rindes auf das Wachstum der Süßwasserschnecke <i>Limnaea</i> . Mit Tafel I, 3 Textabbildungen und 13 Kurven | 505 |
| Čejka, Bohumil und Jaroslav Kříženecký , Eine Studie über die Genese und Funktion des Interstitiums auf Grund der Untersuchungen an seneszenten Hoden. Mit Tafel II und 12 Textabbildungen | 524 |
| Romeis, Benno , Histologische Untersuchungen zur Analyse der Wirkung der Schilddrüsenfütterung auf Froschlarven. 1. Einleitung; Versuchsprotokolle; Ergebnisse derselben. Mit 17 Textabbildungen und 3 Kurven | 579 |
| Röthig, Paul , Beiträge zum Studium des Centralnervensystems der Wirbeltiere. 8. Über das Zwischenhirn der Amphibien. Mit 31 Textabbildungen | 616 |
| Autorenverzeichnis | 646 |

Physiologische Untersuchungen über die Eireifung bei *Pomatoceros triqueter* L.

Von

Sven Hörstadius.

(Aus dem Zootomischen Institut Stockholm.)

Mit 4 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Juli 1922.)

Material, Problem und Methoden.

Während des Sommers 1921 habe ich einige Untersuchungen über die Bedingungen der Reifung der Eier von *Pomatoceros triqueter* L. ausgeführt. Dieser Serpulid lebt in kleinen Kalkröhren auf Plätzen mit schwach strömendem Wasser, wo der Salzgehalt zwischen 22 bis 30‰ wechseln kann. Die Geschlechter sind während der Fortpflanzungszeit (Mitte Juni bis Mitte August) leicht zu unterscheiden, indem die Männchen von den Spermien in der Leibeshöhle eine grau-weiße Farbe bekommen, während die schwach roten Eier den Weibchen eine hellrote Farbe verleihen.

In der Leibeshöhle haben die Eier Polyederform, unmittelbar nach der Ablage werden sie abgerundet. Sie sind von einer Membran umgeben. Ihre Form ist stark abgeplattet, sie haben einen Durchmesser von 0,08 mm, aber eine Dicke von nur 0,03 mm. Der Kern ist groß und hat einen deutlichen Nucleolus.

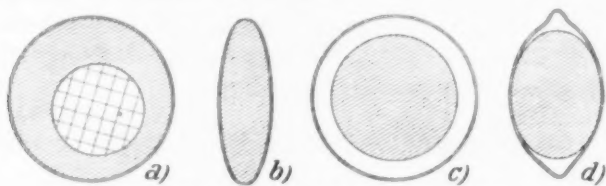


Abb. 1. Unreifes Ei a) von oben, b) von der Seite,
und reifes Ei c) von oben, d) von der Seite (schematisch).

Alle abgelegten Eier sind unreif, die Reifung fängt erst im Seewasser an. Hierbei verschwindet der Kern, das Pigment wird umgelagert, so daß ein diffuser, roter Ring am oberen (animalen) Pol entsteht, und das ganze Ei erfährt eine Formveränderung in der Weise, daß der Durchmesser verkleinert wird und die Dicke wächst. Die Membran behält ihren ursprünglichen Diameter, wodurch das reife Ei das charakteristische Aussehen von Abb. 1 c und d bekommt. Ohne Be-

fruchtung schreitet die Reifung nur bis zur Bildung der ersten Spindel fort.

Durch Messungen der Achsen von mit dem Zeichenapparat abgebildeten Eiern hat es sich ergeben, daß die oben erwähnte Formveränderung auch eine Verminderung des Volumens in sich schließt. Von 40 reifen und 40 unreifen Eiern waren die reifen durchschnittlich 13,3% kleiner. Nach *W. Johannsen*, Elemente der exakten Erblichkeitslehre (Jena 1909) ist der mittlere Fehler der Differenz zwischen den Mittelwerten berechnet worden. Dieser Fehler ist $\pm 1,973$. Im ungünstigsten Falle wird die Differenz zwischen unreifen und reifen 11,368, also beinahe sechsmal größer als 1,973. Man hat die Forderung, daß eine Differenz zwischen zwei Mittelwerten wenigstens dreimal so groß wie der Fehler der Differenz sein muß, wenn ihr eine Bedeutung zugeschrieben werden soll. In diesem Falle kann also mit Bestimmtheit gesagt werden, daß die Eier während der Reifung eine Volumenverminderung durchmachen.

Was unten kurzweg Reifung genannt wird, bezeichnet die Bildung der ersten Spindel und die Volumenverminderung.

Faktoren, welche die Eireifung beeinflussen können, sind die Temperatur, der osmotische Druck, einzelne Ionen, der Gehalt an Sauerstoff und Kohlensäure, mechanische oder chemische Reizung durch die Spermien. Ich habe die Einwirkung der Alkalinität, der Temperatur, von Kalium und Kalzium, sowie des osmotischen Druckes geprüft. Ehe ich die Ergebnisse vorlege, muß ich die Versuchsmethoden schildern.

Für die Versuche wurden entweder durch ein Berkefeldfiltrum filtriertes Seewasser oder künstliches Seewasser benutzt. Das letztere wurde nach der von *Meyerhof* angegebenen Vorschrift (vgl. *Ewald*, Journal of exp. Zoology, Bd. 13, 1912) gemacht, aber mit dem Unterschied, daß anstatt 0,65 Mol. 0,5 Mol. Lösungen gebraucht wurden. Die Zusammensetzung war die folgende:

| | |
|-----------|---------------------------|
| 100,0 ccm | 0,5 Mol. NaCl, |
| 2,2 " | 0,5 " KCl, |
| 2,0 " | 0,5 " CaCl ₂ , |
| 6,6 " | 0,5 " MgCl ₂ , |
| 4,2 " | 0,5 " MgSO ₄ , |
| 0,25 " | 1 " NaHCO ₃ , |
| 0,2 " | 0,1 " NaOH. |

Dieses gibt 115 ccm Wasser mit einem Salzgehalt von 31,9‰. Jedesmal wurde es zu dem Salzgehalt verdünnt, der dem des Wassers der Aquarien entsprach. Um hypertonisches Wasser zu bekommen, wurden 1 Mol. anstatt 0,5 Mol. Stammlösungen benutzt und die dop-

pelten Mengen von NaHCO_3 und NaOH genommen. Da, wie wir später sehen werden, die Alkalinität von außerordentlicher Bedeutung ist, wurde immer der P_H -Wert aller Lösungen korrigiert. Um P_H zu bestimmen, benutzte ich die Methoden von *S. Palitzsch* (Biochem. Zeitschr. Bd. 70, 1915) mit Phenolphthalein und Naphtholphthalein als Indikatoren.

Das Seewasser bei Kristineberg hat einen P_H -Wert von 8,2—8,3. Um folgende P_H -Werte zu erhalten, werden zu 100 ccm filtrierten Seewassers + 0,25 ccm Mol. NaHCO_3 (als Puffer) oder zu 100 ccm künstlichen Seewassers, in beiden Fällen P_H 8,2—8,3, die folgenden Mengen gesetzt. (Die P_H -Werte sind alle für die Salzfehler korrigiert.)

| | | | |
|-------------------|---------|-----|------------|
| P_H 7,3 | 1,5 ccm | n/4 | HCl, |
| 7,8 | 1,5 | » | n/10 » |
| 8,4 | 2 | » | n/10 NaOH, |
| 8,9 | 3 | » | n/5 » |
| > 9 | 4 | » | n/5 » |

Wenn man auf diese Weise den P_H -Wert erhöht oder erniedrigt hat, findet man aber, daß P_H allmählich wieder den Wert 8,2—8,3 annimmt. Dieses wird durch die folgenden Zahlen deutlich. Während eines Versuches ist P_H nach 30 Stunden von 7,5 bis 7,9 gestiegen, eine Lösung von P_H 8 behielt denselben Wert, in Lösungen von P_H 8,6, 9,1, > 9,2 ist der Wert bis 8,2, 8,2 und 8,4 bzw. gesunken. Ein anderer Versuch: P_H 9,1 nach 30 Minuten 9, nach 6 $\frac{1}{2}$ Stunden 8,7. Ein drittes Mal stieg der P_H -Wert für eine Lösung von P_H 7 während des Versuches. — Die Erklärung der Regulation ist folgende. Dadurch, daß Kohlensäure aufgenommen wird, wird P_H in Lösungen mit höherem P_H -Wert erniedrigt. Wenn man durch Säurezusatz den P_H -Wert erniedrigt, wird Kohlensäure frei. Das langsame Weggehen dieser Kohlensäure erklärt die langsame Erhöhung des P_H -Wertes. Die letzte Erklärung hat Herr Professor *Svante Arrhenius* die Freundlichkeit gehabt, mir zu geben.

Verdünnung hat innerhalb weiter Grenzen keinen Einfluß auf den P_H -Wert.

Wenn man Reihen von Lösungen mit verschiedenem Gehalt von Kalium und Kalzium macht, findet man, daß mit höherem K-Gehalt P_H höher, mit steigendem Ca-Gehalt niedriger wird. Eine Reihe mit 2, 5 und 8 ccm 0,5 Mol. KCl per 100 ccm Lösung behält nach Korrektur (mit NaHCO_3) einen konstanten P_H -Wert. Dasselbe gilt nicht für eine Ca-Reihe, indem P_H für die Lösung mit 8 ccm 0,5 Mol. CaCl_2 sinkt. Die niedrigeren Konzentrationen bleiben konstant.

Durch den Reiz, welchem die Tiere ausgesetzt werden, wenn sie aus ihren Schalen herausgenommen werden, legen sie die meisten

ihrer Eier ab. Wenn Eier von mehr als einem Weibchen für einen Versuch erforderlich waren, wurden die Eier, um gleichwertiges Material zu erhalten, vor der Verteilung in die verschiedenen Lösungen genau gemischt. Ging z. B. Ca-freies Wasser in der Versuchsreihe ein, so wurden die Eier in einen Tropfen von solchem Wasser abgelegt. Um die eventuelle Wirkung von Spermien zu eliminieren, wurden die Weibchen unmittelbar nach dem Ausnehmen aus der Schale einen Augenblick in destilliertem Wasser gespült, wodurch die Spermien getötet werden.

Um zu ermitteln, an welchem Zeitpunkt die Reifung als beendet angesehen werden konnte, wurden Eier nach 1, 2, 3, 4¹/₂ und 6 Stunden fixiert und gezählt. Die Prozentzahlen waren 1,7, 4,1, 5,1, 5,0 und 5,1 bzw. Nach 3 Stunden sind also diejenigen Eier reif, die überhaupt reifen können. In den folgenden Versuchen wurden demgemäß nach 3 Stunden die Eier durch Zusatz von einigen Tropfen Formalin zu jeder Schale fixiert und danach gezählt. Alle Prozentzahlen gelten für 1000 gezählte Eier.

Die Einwirkung der Alkalinität.

Die Reifungsprozente in den Versuchsreihen mit verschiedenen P_H -Werten waren die folgenden.

| | |
|-----------------------------------|-----------------------|
| 1. P_H 7 ¹) = 0,6 % | 3. P_H 7,5 = 3 % |
| „ 8 = 25,0 % | „ 8 = 4,6 % |
| „ 9 = 31,0 % | „ 8,5 = 11,0 % |
| | „ 8,7 = 11,6 % |
| 2. P_H 7,5 = 5,2 % | |
| „ 8 = 17,9 % | 4. P_H 8,3 = 68,5 % |
| „ 8,2 = 24,8 % | „ 9,1 = 85,6 % |
| „ 8,6 = 27,7 % | „ > 9,6 = 86,6 % |
| „ 9,1 = 28,8 % | |
| „ > 9,2 = 30,4 % | 5. P_H 8,3 = 3,8 % |
| | „ > 9,2 = 48,9 % |

Befruchtung von Eiern, die in einer Lösung mit $P_H > 9,2$ gereift hatten, ist gelungen, wenn sie in gewöhnliches Seewasser übergeführt wurden, nicht in der Lösung selbst. — In einer Lösung von $P_H > 9,6$ fängt Kalzium binnen kurzem zu fallen an. Da die chemische Zusammensetzung des Seewassers hierdurch verändert wird, kann man nicht höhere P_H -Werte prüfen.

Von diesen Tabellen und den Kurven Abb. 2 ergibt sich, daß die Reifung mit steigendem P_H -Wert steigt. In sauren Lösungen tritt keine Reifung ein. Man darf annehmen, daß auch in einer neutralen Lösung (P_H 7,07) keine Reifung stattfindet. (Die Prozentzahl 0,6 für

¹) Der P_H -Wert stieg während des Versuches.

P_H 7 wird durch die Erhöhung des P_H -Wertes während des Versuches erklärt.)

Der P_H -Wert der Leibeshöhleflüssigkeit wurde untersucht, und es konnte mit Hilfe von Kresolrot und Phenolrot festgestellt werden, daß der P_H -Wert zwischen 6,8 und 7,2 liegt, also ist sie wahrscheinlich neutral.

Wie oben gesagt, werden alle Eier unreif abgelegt. Man fragt sich: was verhindert die Reifung in der Leibeshöhle und was gibt den Anstoß zum Reifungsprozesse, wenn die Eier ins Wasser gelangen? Aus dem oben Angeführten dürfte hervorgehen, daß die neutrale Beschaffen-

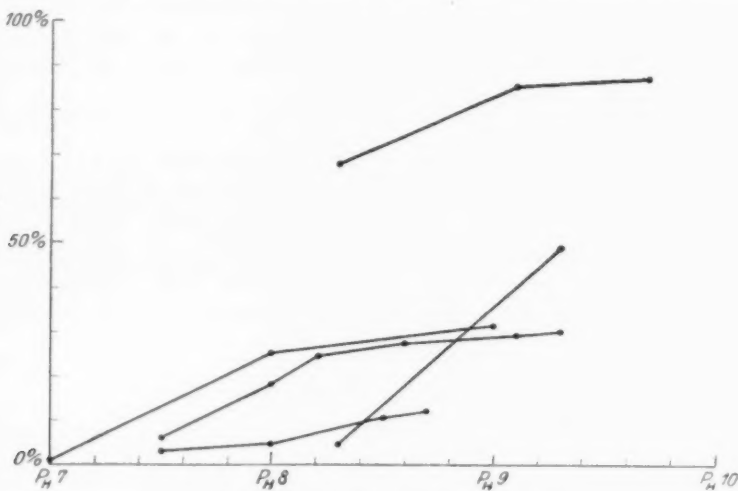


Abb. 2. Kurven um die Einwirkung von P_H zu zeigen.

heit der Leibeshöhleflüssigkeit die Reifung verhindert und die Alkalinität des Seewassers bei der Eiablage die Reifung in Gang setzt.

Die Spermien werden erst im Wasser beweglich. Die Annahme liegt nahe, daß auch hier die Alkalinität die Rolle als auslösender Faktor spielt. An *Pomatoceros* habe ich diese Sache nicht untersucht, aber spätere Beobachtungen in Neapel auf Spermien von *Astropecten aurantiacus* haben für diese Art die Annahme bestätigt.

Die Leibeshöhleflüssigkeit hat gewiß einen niedrigeren Sauerstoffdruck als das Seewasser. Daher könnte angenommen werden, daß der höhere Sauerstoffgehalt bei der Eiablage als auslösender Faktor wirkt. Aber der Umstand, daß Reifung in sauren und neutralen Lösungen nicht stattfindet, obwohl der Gehalt an Sauerstoff hier sicher ebenso groß wie in normalem Seewasser ist, beweist, daß der Sauerstoff kein »auslösender Faktor« ist. Aber zweifelsohne muß der Sauerstoff als ein »notwendiger Faktor« angesehen werden.

Die Einwirkung der Temperatur.

Eine Prüfung der Einwirkung der Temperatur hat folgendes Resultat ergeben: $4^{\circ} = 10,0\%$, $11^{\circ} = 14,9\%$, $16^{\circ} = 19,3\%$, $22^{\circ} = 7,0\%$, $30^{\circ} = 0\%$. In der Lösung von 22° waren 81% der Eier deformiert. Werden Eier einer Temperatur von 40° ausgesetzt, so treten eine oder ein paar große, ungefärbte Blasen heraus, oft von demselben Diameter wie die Eier selbst. Wahrscheinlich sind es die Lipide, die heraus-treten. Bei einer Temperatur von 55° tritt Cytolyse ohne Austritt von Blasen ein: die Koagulation des Eiweißes wirkt ver hindernd. — Eine Erhöhung der Temperatur wirkt also befördernd bis zu einer gewissen Grenze. Es ist bemerkenswert, daß, wie manche chemische Reaktionen bei einer Temperaturerhöhung von 10° doppelt so schnell verlaufen, auch hier eine ähnliche Erhöhung beinahe die doppelte Zahl von reifen Eiern gibt.

Die Einwirkung der Kalium- und Kalzium-Ionen.

Die Versuche über die Einwirkung von K- und Ca-Ionen zeigten, daß die Abwesenheit von Kalium befördernd wirkt und daß das Resultat mit steigendem Kaliumgehalt schlechter wird. Für Kalzium gilt gerade das Gegenteil. In Ca-freiem Wasser findet beinahe keine Reifung statt. Dieses überraschende Resultat wird durch die folgenden Zahlen ausgedrückt.

| | 1. | 2. |
|--------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| K-freies Wasser | 24,3 ^o / _o | 14,0 ^o / _o |
| 2 cem 0,5 Mol. KCl per 100 cem | 14,2 ^o / _o | 12,5 ^o / _o |
| 5 " 0,5 " " " 100 " | 6,8 ^o / _o | 6,1 ^o / _o |
| 8 " 0,5 " " " 100 " | 4,7 ^o / _o | 4,0 ^o / _o |

| | 1. | 2. | 3. |
|--|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Ca-freies Wasser | 0,4 ^o / _o | 0,1 ^o / _o | 0,6 ^o / _o |
| 2 cem 0,5 Mol. CaCl ₂ per 100 cem | 5,4 ^o / _o | 14,4 ^o / _o | 4,4 ^o / _o |
| 5 " 0,5 " " " 100 " | 23,1 ^o / _o | 18,7 ^o / _o | 5,9 ^o / _o |
| 8 " 0,5 " " " 100 " | 14,4 ^o / _o | 9,7 ^o / _o | 4,7 ^o / _o |

Der Umstand, daß die Prozentzahl in der Lösung mit 8 Ca niedriger wie in derjenigen mit 5 Ca ist, wird wenigstens zum Teil durch das oben erwähnte Absinken des P_H -Wertes erklärt. — Auch die in den stärksten Ca-Konzentrationen gereiften Eier konnten mit gutem Erfolg befruchtet werden. Eier, welche mehrere Stunden in Ca-freiem Wasser ohne zu reifen gelegen hatten, wurden nach Überführung in normales Wasser reif und befruchtungsfähig.

Kalzium scheint also für die Reifung notwendig zu sein. Kalium übt bekanntlich eine quellende, Kalzium eine schrumpfende Wirkung auf die Protoplasmakolloide aus. Da die *Pomatoeceros*-Eier während der Reifung

eine Volumenerniedrigung erleiden, stehen die gefundenen Resultate in voller Übereinstimmung mit diesen Eigenschaften der beiden Ionen.

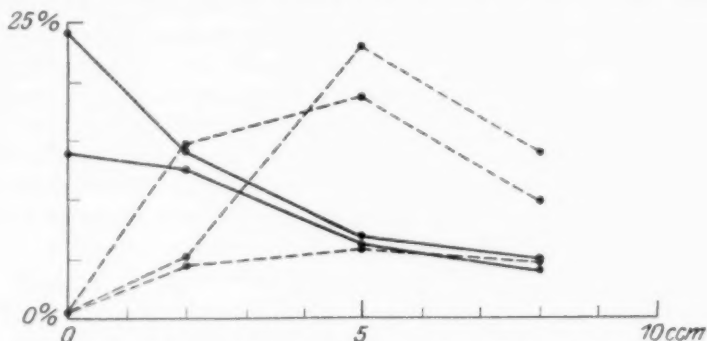


Abb. 3. Wirkung der KCl-Lösung ausgezogen, der CaCl_2 -Lösung gestrichelt.
An der Abszisse ccm der 0,5 Mol. Salzlösungen zu 100 ccm der künstlichen Seewasserlösung.

Die Einwirkung des osmotischen Druckes.

In Versuchsreihen mit verschiedenem osmotischen Druck hat es sich herausgestellt, daß das Optimum der Reifung in dem Gebiet des normalen Salzgehaltes ($24-30\text{‰}$) liegt.

| | |
|----------------------------------|----------------------------------|
| 1. $19,1\text{‰} = 0\text{‰}$ | 3. $26,4\text{‰} = 22,0\text{‰}$ |
| $21,8\text{‰} = 4,0\text{‰}$ | $33\text{‰} = 18,5\text{‰}$ |
| $24,5\text{‰} = 10,0\text{‰}$ | $44\text{‰} = 16,7\text{‰}$ |
| $27,2\text{‰} = 24,2\text{‰}$ | 4. $29,3\text{‰} = 6,8\text{‰}$ |
| 2. $21,2\text{‰} = 12,8\text{‰}$ | $33\text{‰} = 4,9\text{‰}$ |
| $26,4\text{‰} = 22,0\text{‰}$ | $44\text{‰} = 2,9\text{‰}$ |
| | $55\text{‰} = 2,0\text{‰}$ |
| | $64\text{‰} = 0\text{‰}$ |

Eier, die mehrere Stunden in Lösungen von 21 und 55‰ gelegen hatten, wurden in normales Seewasser übergeführt. Es ist

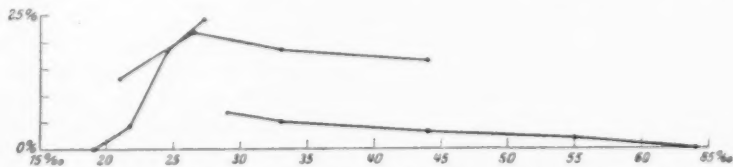


Abb. 4. Einwirkung des osmotischen Druckes.

gelungen, sie zu befruchten. Ich lasse unentschieden, ob die befruchteten Eier schon in den betreffenden Lösungen gereift hatten oder ob die Reifung erst nach der Überführung eingetreten war. Der Versuch zeigt aber, daß diese stark hypo- und hypertonischen Lösungen die Eier ungeschädigt lassen können. Mit steigendem osmotischen Druck

ist aber ein Zerfall eines Teils der Eier zu beobachten. In der Versuchsreihe 4 waren die Prozentzahlen von zerfallenen Eiern: $29,3\text{‰}$ = $2,2\text{‰}$, 33‰ = $2,6\text{‰}$, 44‰ = $16,9\text{‰}$, 55‰ = $68,9\text{‰}$.

Aus der Kurve Abb. 4 geht hervor, daß das Reifungsprozent mit abnehmendem osmotischen Druck viel schneller als mit steigendem Druck sinkt. Dieses steht auch mit der Volumenverminderung im Einklang, denn eine hypotonische Lösung muß diese selbstverständlicherweise sein.

Da Kalzium eine schrumpfende Wirkung hat, konnte die Annahme aufgestellt werden, daß ein erhöhter Gehalt von Kalzium die quellende Wirkung einer hypotonischen Lösung aufheben würde. Versuche haben aber diese Annahme nicht bestätigt.

Nachdem diese Untersuchungen ausgeführt worden waren, hat *E. Fauré-Fremiet* in *Comptes rendus des Séances de la Société de Biologie*, Bd. LXXXV, Nr. 31, Paris, November 1921, einige Ergebnisse von Untersuchungen über die Eireifung von *Sabellaria* veröffentlicht. Die Verhältnisse scheinen denen bei *Pomatoceros* ähnlich zu sein, obwohl *Fauré-Fremiet* keine Volumenverminderung beschreibt. Er hat gefunden, daß die Reifung von sauren und neutralen Lösungen gehemmt wird, daß die Gewebe des Muttertieres (*tissus maternels*), besonders in der Nachbarschaft der Eier eine niedrigere Alkalinität (Zahlenangaben mangeln vollständig) wie die des Seewassers haben und daß die Weibchen einen 6—9 Hundertstel Grad niedrigeren Gefrierpunkt wie den des Seewassers haben. Aus diesen Tatsachen schließt er, daß eine Erhöhung der Alkalinität und Erniedrigung des osmotischen Druckes notwendig sind, um den Reifungsprozeß auszulösen.

Ich bezweifle, daß der osmotische Druck eine solche Rolle spielt. Wenn man mit zwei Faktoren zu tun hat, welchen beiden eine Wirkung auf eine Reaktion zugeschrieben werden kann, muß selbstverständlich die Einzelwirkung jedes Faktors geprüft werden. In diesem Falle sollten Versuche mit Lösungen von verschiedenem osmotischen Druck, aber demselben P_H -Wert angestellt worden sein. Eine Gefrierpunktniedrigung von 6—9 Hundertstel Grad entspricht nach den Tabellen von *Martin Knudsen* (*Publications de Circonstance*, Nr. 5, Kopenhagen, 1903) einer Vermehrung des Salzgehaltes von 1— $1,6\text{‰}$. Dieser Unterschied ist viel kleiner als die Variationen des Salzgehaltes, die das Seewasser, wo *Pomatoceros* lebt, von Tag zu Tag vorzeigen kann. Es ist wohl wahrscheinlich, daß für so nahestehende Arten wie *Sabellaria* und *Pomatoceros* dieselben Faktoren auf die Reifung einwirken. Wäre die Annahme *Fauré-Fremiets* richtig, so würde die Reifung der Eier unmöglich gemacht werden, wenn der Salzgehalt steigt. *Fauré-Fremiet* hat den Gefrierpunkt des ganzen Tieres gemessen. Da die Eier längere Zeit vor dem Ausschlüpfen in der Leibeshöhle

liegen, muß der Gefrierpunkt nur der Leibeshöhleflüssigkeit und nicht des ganzen Tieres berücksichtigt werden. (Auch muß die Alkalinität der Leibeshöhleflüssigkeit und nicht die der Gewebe gemessen werden. Wahrscheinlich ist die Alkalinität der Zellen niedriger als die der Leibeshöhleflüssigkeit.) Vermutlich hat die Leibeshöhleflüssigkeit denselben osmotischen Druck wie das Seewasser, immer seinen Variationen folgend. Außerdem, meine Versuche mit hypotonischen Lösungen (Abb. 4) zeigen, daß niedrigerer Druck die Reifung hemmt. Da aber die Differenzen in Druck in den verschiedenen Lösungen hier größer als 1—1,6‰ sind, kann man aus diesen Versuchsreihen keinen sicheren Schluß ziehen. Aus dem soeben Angeführten dürfte hervorgehen, daß die Behauptung *Fauré-Fremiets* nicht als bewiesen angesehen werden kann.

Man fragt sich unbedingt, was die Volumenverminderung bei der Reifung veranlaßt und wie sie erfolgt. *Hamburger* (zit. nach *Biochem. Zeitschr.*, Bd. 128, S. 208, 1922) hat gefunden, daß höhere Alkalinität bei Blutkörperchen, Spermatozoen, Ösophagus- und Nierenepithelien und Leberzellen eine Volumenverminderung zur Folge hat. Möglicherweise besteht hier dasselbe Verhältnis. — Der Umstand, daß der große, saftreiche Kern verschwindet und daß das Plasma nach der Reifung eine dichtere Konsistenz zu haben scheint (es ist z. B. stärker färbbar), spricht für die Annahme, daß die Verminderung durch Flüssigkeitsaustritt vor sich geht. Ob nur Wasser oder auch Salze austreten, ist unentschieden.

Zusammenfassung der Resultate.

Die Eier von *Pomatoceros triqueter* L. erleiden bei der Reifung eine Volumenverminderung. Ohne Befruchtung schreitet die Reifung nur bis zur Bildung der ersten Spindel fort. Die neutrale Beschaffenheit der Leibeshöhleflüssigkeit verhindert die Reifung in der Leibeshöhle. Die Alkalinität des Seewassers setzt den Reifungsprozeß in Gang. Höhere Alkalinität wirkt befördernd auf die Reifung. Mit steigender Temperatur steigt das Reifungsprozent bis zu einer gewissen Grenze. Abwesenheit von Kalium wirkt befördernd, mit steigendem Kaliumgehalt wird das Resultat schlechter. Für Kalzium gilt gerade das Gegenteil. Hyper- und Hypotonie wirken beide hemmend, letztere jedoch in höherem Grade als erstere.

Die Untersuchungen wurden an der Zoologischen Station Kristineberg, Schweden, ausgeführt. Es ist mir eine angenehme Pflicht, dem Direktor, Herrn Professor *Hjalmar Thiel*, und dem Vorstand, Herrn Dr. *Hjalmar Östergren*, meinen besten Dank auszusprechen. Schließlich richte ich den herzlichsten Dank an Herrn Dr. *John Runnström*, Stockholm, der mir die Idee der Untersuchung gegeben und mit größtem Interesse und größter Freundlichkeit meine Arbeit geleitet hat.

Neapel, Juli 1922.

Über künstlich bewirkte Teilung des unbefruchteten Säugetiereies. Zugleich Versuche zur Erzeugung von Extrauterin gravidität.

Von

J. Novak und K. Eisinger.

(Aus dem embryologischen Institut der Universität Wien

[Vorstand: A. Fischel].)

Mit 26 Textabbildungen.

(Eingegangen am 17. August 1922.)

Inhaltsübersicht.

| | Seite |
|--|-------|
| Einleitung | 10 |
| Ziel der Untersuchung | 12 |
| Untersuchungsmethode | 14 |
| Ergebnisse der Versuche | 17 |
| Schlußfolgerungen | 40 |
| Anhang: Bemerkungen über den Transport der Säugetiereier durch die Tube in den Uterus | 44 |
| Literaturverzeichnis | 46 |

Einleitung.

In der Literatur liegen Angaben vor, welche darauf hinweisen, daß auch bei Wirbeltieren, und zwar sogar bei Säugetieren parthenogenetische Entwicklungsvorgänge möglich sind. Die Auffassung der betreffenden Befunde als Beweise für eine Parthenogenese wurde allerdings nicht allgemein geteilt, diese Deutung sogar energisch bestritten (*Bonnet*). Seitdem es jedoch durch die Versuche von *J. Loeb* und anderen erwiesen ist, daß eine parthenogenetische Entwicklung sowohl bei Eiern von Wirbellosen, als auch bei Wirbeltieren auf experimentellem Wege ausgelöst werden kann, erscheinen diese Literaturangaben in einem anderen Lichte und sind die Zweifel, denen ihre Deutung früher begegnete, weniger berechtigt, als in jener früheren Zeit, aus welcher die meisten der betreffenden Angaben stammen.

Versuche, welche wir, einer Anregung Prof. *Fischels* folgend, an weißen Ratten unter Ausnutzung der eigenartigen anatomischen Verhältnisse des Geschlechtsapparates dieser Tiere vornahmen, teils um das Schicksal unbefruchteter, im Geschlechtskanale zurückgehaltener Eier festzustellen, teils um eine künstliche Extrauterin gravidität zu erzeugen, ergaben Befunde, welche für diese nicht unwichtige Frage von Bedeutung erscheinen und über welche wir daher im Nachfolgenden berichten wollen.

Bekanntlich liegt das Ovarium der Ratte nicht frei in der Bauchhöhle oder in einer mit der Bauchhöhle kommunizierenden Nische (Ovarialtasche), sondern in einem allseits gegen die Peritonealhöhle zu abgeschlossenen, mit Endothel ausgekleideten Sacke, in welchen das Fimbrienende der Tube hineinragt. Das Tubenlumen stellt demnach den einzigen Ausweg aus der Ovarialkapsel dar. Bezüglich der interessanten vergleichend-anatomischen Verhältnisse, welche die Ovarialtasche verschiedener Tiere darbietet, verweisen wir auf die Untersuchungen Zuckerkandls, hinsichtlich der speziellen Verhältnisse bei der Maus und bei der Ratte auf die Arbeiten von Powierza, Sobotta-Burckhard und Fischel.

Hier soll nach diesen Arbeiten nur das Verhalten der inneren Geschlechtsorgane von *Mus decumanus*, soweit es zum Verständnis der von uns durchgeführten Versuche notwendig ist, kurz geschildert werden. Der Raum zwischen dem Ovarium und der Ovarialkapsel, der Periovarialraum, ist von einer Flüssigkeit erfüllt, welche als ein Sekretionsprodukt der Ovarialkapselwand aufzufassen ist und welche zu verschiedenen Zeiten an Menge außerordentlich wechselt. Zur Zeit des Follikelsprungs stellt die Ovarialkapsel ein prall mit Flüssigkeit gefülltes durchsichtiges Gebilde dar, durch welches das eingeschlossene Ovarium durchschimmert. Zu anderen Zeiten liegt die Wand der Ovarialkapsel dem Ovarium mehr oder minder enge an, so daß der Periovarialraum auf dem Durchschnitt bloß als ein enger kapillarer Spalt erscheint. Die Kapselflüssigkeit scheint während der verschiedenen Phasen des Geschlechtslebens nicht nur quantitative, sondern auch qualitative Veränderungen aufzuweisen. Bei schwacher Ausdehnung der Ovarialkapsel sieht man im fixierten Präparat bloß eine geringe Menge eines schwach mit Eosin gefärbten feinflockigen Inhaltes, bei starker Ausdehnung einen mehr oder minder homogenen, stärker mit Eosin färbbaren Inhalt.

Die Tube stellt einen stark gewundenen Schlauch dar, dessen Anfangsschlinge die Ovarialkapsel durchbricht und mit dem Fimbrienende frei in den Periovarialraum hineinragt. Das *Ostium uterinum tubae* liegt nicht an der Spitze des Uterushorns, sondern die Tube tritt seitlich an den Uterus heran, verläuft eine Strecke weit in seiner Wand, um schließlich mit einem hügelartig in das Lumen vorspringenden Wandabschnitt in den Uterus zu münden.

Der Übertritt der Eier aus dem Periovarialraum in die Tube erfolgt höchstwahrscheinlich nicht oder nicht allein unter dem Einflusse des Flimmerstroms, sondern unter der Einwirkung der glatten Muskulatur der Tube und deren Umgebung. Namentlich sind es zwei von Fischel beschriebene Züge glatter Muskulatur (*Musculus mesenterii tubae* und *Musculus infundibuli tubae*), welche durch ihre eigenartige

Anordnung geeignet erscheinen, teils eine Druckwirkung auf die im Periovarialraum befindliche Flüssigkeit auszuüben, teils eine Saugwirkung seitens der erweiterten Tube zu ermöglichen und dadurch die Eier aus dem Periovarialraum in die Tube zu befördern.

Früher war man geneigt, der Flimmerbewegung den Hauptanteil an dem Transport der Eier in die Tube zuzuschreiben. Aus den Untersuchungen *Schaffers* u. a. wissen wir jedoch, daß das Flimmer-epithel bei der Maus und bei der Ratte im isthmischen Teil der Tube fehlt und durch zusammenhängende Strecken eines nicht flimmernden Epithels ersetzt ist. Der Flimmerstrom kann daher nicht instande sein, die Fortbewegung des Eies in die Tube allein zu bewirken. Hieraus und aus anderen Umständen ist daher zu folgern (*Fischel*), daß der Muskulatur der Tube eine wesentliche — wenn nicht gar ausschließliche — Rolle bei dieser Aufgabe zufällt.

Ziel der Untersuchungen.

Diese Bauverhältnisse des weiblichen Geschlechtsapparates bei *Mus decumanus* gestatten nun, die Schicksale des in den Eileiter gelangten, aber dort festgehaltenen Eies zu verfolgen, wenn man die Festhaltung des Eies durch *Abbinden des Eileiters* oder des Uterus (im oberen Abschnitte) erzwingt. Denn das Ei kann bei der Ratte nicht wie bei Tieren ohne Ovarialkapsel aus dem Ovarium in die Bauchhöhle fallen, muß vielmehr, falls es nicht innerhalb der Ovarialkapsel selbst verbleibt, in den Eileiter eintreten. Die Abbindung des Eileiters läßt sich nun für zwei verschiedene Fragestellungen verwenden, je nachdem, ob man *befruchtete* oder *unbefruchtete* Eier in den Eileiter eintreten läßt. Im zweiterwähnten, durch Verhütung der Befruchtung der Versuchstiere erzielbaren Falle, kann man prüfen, was aus den unbefruchtet in den Eileiter gelangten Eiern wird, kann also vor allem der Frage nachgehen, ob sich derartige Eier überhaupt weiter entwickeln. Verwendet man befruchtete Eier, so läßt sich prüfen, ob sich diese Eier in der Tube oder am Ovarium festsetzen, ob also eine Extrauterin gravidität zustande kommt, deren Entstehungsart dann näher untersucht und zur Aufklärung der Vorgänge bei der menschlichen Extrauterin gravidität verwertet werden könnte.

Die Ursache der Extrauterin gravidität konnte bis heute trotz zahlreicher klinischer, pathologisch-anatomischer und experimenteller Forschungen nicht sicher gestellt werden. Abnorme Zustandsveränderungen des befruchteten Eies, Unzulänglichkeit der Kräfte, welche für die Fortbewegung des Eies in Betracht kommen, mechanische Hindernisse, welche sich dieser Fortbewegung in den Weg stellen, Veränderungen der Tubenwand, welche das vorzeitige Haftenbleiben des befruchteten Eies ermöglichen u. a. m., werden als Ursache der ektopischen Schwan-

gerschaft angeführt. *Werth* hat in seiner ausgezeichneten Monographie diese mannigfachen Erklärungsversuche kritisch zusammengestellt, so daß wir hinsichtlich der einschlägigen Literatur auf diese umfassende Arbeit verweisen können.

Die meisten Erklärungsversuche fußen auf klinischen Beobachtungen. Am besten gestützt erscheint die Ansicht, daß eine vorausgegangene chronische Entzündung den Boden für eine Extrauteringravität vorbereite. Die Frage dreht sich nur darum, welcher Mechanismus den Einfluß chronisch-entzündlicher Veränderungen der Eileiter auf die Entstehung einer Extrauteringravität vermittelt. Es wäre von großem Interesse, wenn wir imstande wären, die einzelnen dabei in Frage kommenden Faktoren zu sondern und die Wirkung eines jeden von ihnen experimentell zu prüfen.

Die zunächst in Betracht kommende Untersuchungsmethode ist naturgemäß jene, bei welcher die Wanderung des Eies durch ein künstlich gesetztes Hindernis unterbrochen wird, so daß infolge dessen das Ei zur Ansiedlung in einem höher gelegenen Abschnitt des Genitalschlauches gezwungen ist. Dieser Weg wurde unabhängig voneinander von *Tainturier* sowie von *Mandl* und *Schmit* betreten. *Tainturier* kommt auf Grund seiner Versuche an Kaninchen zu einem negativen Ergebnis. Wird das Ei durch eine Ligatur der Tube an der Fortsetzung seiner Wanderung behindert, so geht es in der Tube oder in der Peritonealhöhle zugrunde, ohne sich anzusiedeln. *Tainturier* zieht aus seinen Versuchen den Schluß, daß zur Entstehung einer Extrauteringravität nicht nur mechanische Hindernisse in der Leitungsbahn, sondern auch Gewebsveränderungen erforderlich sind, welche einer chronischen Entzündung ihren Ursprung verdanken. *Mandl* und *Schmit* unterbanden bei 8 Tieren (1 Ratte, 2 Kaninchen, 3 Meerschweinchen und 2 Hunden) die Tuben 1—3 Tage nach dem Koitus. Es kam in keinem Falle zur Schwangerschaft. Bei zwei Tieren gelang es, die abgestorbenen Eier in der Tube nachzuweisen. Auch diese Forscher kommen zu der Ansicht, daß zur Entstehung der Extrauteringravität ein Weghindernis nicht genüge, sondern eine krankhafte Beschaffenheit der abnormen Ansiedlungsstelle hinzutreten müsse.

Während diese Autoren den Versuch machten, beim Tiere experimentell ähnliche Verhältnisse herzustellen, wie sie in der menschlichen Pathologie in Betracht kommen können, betraten andere Forscher Wege, welche weniger zur Erforschung der Ätiologie der menschlichen ektopischen Schwangerschaft als zur Erklärung gewisser krankhafter Vorgänge bei Tieren beitragen konnten. Bei Tieren ist eine echte Extrauteringravität, d. h. eine primäre Eiansiedlung außerhalb des Uterus äußerst selten. *Reinhardt* führt in *Harms* Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe nur zwei Fälle von *Ovarialgravität* und zwei

Fälle von *Tubenschwangerschaft* bei Haustieren an. *Werth* zitiert nur einen einzigen, von *Waldeyer* beschriebenen Fall von Tubengravidität bei einem Mantelpavian. Dagegen findet man gar nicht selten bei einer Reihe von Tieren, namentlich bei Hasen, in der *Bauchhöhle* gelagerte Früchte, welche offenbar erst sekundär nach einer Spontanruptur der Gebärmutter in die freie Bauchhöhle gelangt waren und sich da selbst weiter entwickelt hatten. Die Rißstelle im Uterus kann so gut verheilen, daß die Narbe nur bei genauer histologischer Untersuchung nachzuweisen ist. In manchen Fällen dürfte die Ruptur auf eine Achsendrehung des Tragsackes zurückzuführen sein, eine Erkrankung, die bekanntlich nicht selten vorkommt. Sehr unwahrscheinlich klingt dagegen die Annahme von *Klebs*, daß die Eier auch durch antiperistaltische Bewegungen des Genitalschlauches aus dem Uterus durch die Tube in die Bauchhöhle gelangen könnten. Angesichts der gewaltigen räumlichen Differenzen zwischen dem graviden Uterus und der nicht graviden Tube ist ein solcher Vorgang wohl nicht möglich.

Daß es auch experimentell gelingt, derartige sekundäre Bauchschwangerschaften zu erzeugen, haben *Sittner* und *Wolf* bewiesen. Schneidet man die Eikammer trächtiger Kaninchen an, so treten die Früchte unter Retraktion der Wand des Fruchthalters aus. Erfolgt bei diesem Vorgang die Ablösung der Placenta von ihrer Unterlage nicht plötzlich, sondern allmählich, dann kann der Mutterkuchen neue Gefäßverbindungen mit den Bauchorganen, vor allem mit dem Netz eingehen und auf diese Weise den Fetus in zureichender Weise ernähren. Man kann in diesem Falle noch längere Zeit nach dem Eingriffe lebende Früchte in der Bauchhöhle antreffen. Die Schnittwunden des Uterus sind ebenso wie die Risse nach Spontanrupturen häufig sehr schwer nachweisbar.

Diese Versuche sind in mancherlei Hinsicht sehr interessant und bilden einen wertvollen Beitrag zur Erklärung der erwähnten Bauchschwangerschaften bei Tieren und mancher Abdominalschwangerschaften beim Menschen, welche irrtümlich als primäre Bauchschwangerschaften aufgefaßt wurden. Das Verständnis für die Pathogenese der primären menschlichen Extrauterinravidität, welche sich in der Tube oder dem Ovarium abspielt, wird dagegen durch diese Versuche nicht gefördert. Die Anstellung neuer, andersartiger Versuche erscheint daher zur Lösung dieser Fragen notwendig.

Untersuchungsmethode.

Unsere Untersuchungen wurden in den zwei bereits angeführten Richtungen ausgeführt, d. h. es wurden die Eileiter einerseits bei nicht begatteten oder von vorher sterilisierten Männchen besprungenen Ratten, anderseits bei kurze Zeit vorher normal begatteten Tieren abgebunden

und hierauf der abgebundene Genitalabschnitt in verschiedenen Zeiträumen nach der Operation näher untersucht.

Diese Operationen führten wir in Äthernarkose und unter aseptischen Kautelen aus. Der kraniale Abschnitt der entsprechenden Hälfte des Genitalschlauches wurde durch einen Längsschnitt in der Flanke an der Grenze von Bauch- und Lendenmuskulatur freigelegt, wobei sich das Ovarium, die Tube und das Uterushorn leicht und ohne Zerrung vorlagern ließen. Diese Organe wurden stets mit größter Vorsicht, nur mittels Erfassen des reichlichen periovarialen Fettgewebes, vorgezogen, der Genitalschlauch selbst ward also nicht berührt. Das Uterushorn wurde meist — abgesehen von einigen Fällen, in denen bestimmte Gründe für eine Änderung der Operationstechnik vorlagen — 3—4 mm kaudalwärts von der Ansatzstelle der Tube mit einem dünnen Seidenfaden fest unterbunden¹⁾. Die vorgelagerten Genitalorgane wurden nach der Abbindung sanft reponiert und die Wunde in zwei Schichten durch fortlaufende Naht geschlossen.

Die Bauchdecken wurden vor der Schnittführung rasiert und nur mit Äther gereinigt. Jodtinktur und andere Desinfektionsmittel wurden vermieden, weil sie die Haut reizen, die Tiere zum Kratzen veranlassen und dadurch die Wundheilung eher beeinträchtigen als fördern. Wir hatten mit dieser einfachen Operationstechnik, welche sich uns bei zahlreichen früheren Tierversuchen bestens bewährt hatte, ausgezeichnete Resultate. Die Operationswunde heilte in allen Fällen *per primam*. Kein Tier zeigte auffallende Krankheiterscheinungen. Bei der Obduktion fanden wir zumeist normale Verhältnisse vor, nur in einzelnen Fällen bestanden leichte Verwachsungen zwischen der Ligaturstelle einerseits und dem Netz oder einer Darmschlinge andererseits.

Die Tiere wurden verschieden lange Zeit vor der Operation den Männchen zugesellt. Anfangs machte es uns Schwierigkeiten, den

¹⁾ Freilich konnte L. Fränkel durch sorgfältige Untersuchungen den Nachweis erbringen, daß es in den meisten Fällen nicht gelingt, die Tube durch eine Ligatur dauernd undurchgängig zu machen. In vielen Fällen wird die Tube wieder durchgängig. Das funktionelle Ergebnis war aber günstiger als das anatomische. Auch in unseren Fällen war das funktionelle Resultat stets, das anatomische nicht immer befriedigend. Wohl sahen wir in einigen Fällen einen völligen Verschuß an der Ligaturstelle, aber dieses Resultat wurde nicht immer erzielt, offenbar deshalb, weil sich die Ligatur entweder infolge einer Atrophie oder einer entzündlichen Einschmelzung der gequetschten Gewebe lockerte. Das funktionelle Ergebnis jedoch, welches für uns allein maßgebend war, entsprach stets unseren Absichten. Die Zurückhaltung der im abgebundenen Teil des Genitalschlauches vorhandenen Eier und das Ausbleiben einer nachträglichen Befruchtung auf der Seite des abgebundenen Uterushorns wurden stets erzielt. Wurde dagegen, wie wir dies in einem Kontrollversuch durchführten, die Ligatur absichtlich locker angelegt, dann kam es auch auf der Seite der Ligatur zur Schwangerschaft.

Koitus selbst zu beobachten, so daß eine Reihe von Versuchen durchgeführt werden mußte, ohne daß wir den stattgehabten Geschlechtsverkehr gesehen hätten. Später gelang es jedoch in jedem Falle, den Koitus durch unmittelbare Beobachtung sicherzustellen, wodurch die erzielten Versuchsergebnisse an Zuverlässigkeit wesentlich gewannen. Der Koitus wird bei demselben Weibchen im Verlauf von einigen Stunden mehrmals ausgeübt. Anfangs lockt das brünstige Weibchen die Männchen an, ohne den Koitus selbst zuzulassen, später wird der Geschlechtsakt mehrmals vollzogen, bis das Weibchen befriedigt ist und einen weiteren Sprung abwehrt. Nach Verlauf des Begattungsprozesses bildet sich in der Vagina ein Pfropf, in welchem man anfangs reichlich Spermatozoen nachweisen kann.

Ovulation und Brunst stehen bekanntlich in einem innigen zeitlichen und kausalen Zusammenhang. Doch mußten wir im Laufe unserer Versuche die Beobachtung machen, daß sich die Zeit, in welcher die weibliche Ratte die Begattung zuläßt, nicht nur auf die Ovulationsperiode beschränkt. Die Ovulation geht, wie bei der Maus, mit der Absonderung einer relativ reichlichen Flüssigkeitsmenge in die Ovarialkapsel einher, welche letztere dadurch stark erweitert erscheint. Diese Flüssigkeit wird mit den ausgestoßenen Eiern in die Tube eingesaugt und erleichtert so den Übergang der Eier aus der Ovarialkapsel in die Tube. Würde die Begattung immer mit der Ovulation zusammenfallen, dann hätten wir bei unseren Operationen, welche stets kurze Zeit (höchstens wenige Stunden) nach der Begattung vorgenommen wurden, die erwähnten Veränderungen an der Ovarialkapsel regelmäßig beobachten müssen. Dies war aber durchaus nicht immer der Fall. In vielen Fällen enthielt die Ovarialkapsel bei der Operation nur eine geringe Flüssigkeitsmenge. Auch konnten wir in solchen Fällen bereits gut entwickelte *Corpora lutea* feststellen. So fanden wir in zwei Versuchen bei der histologischen Untersuchung der Ovarien, obwohl diese Tiere bloß 10, beziehungsweise 19 Stunden nach dem Koitus getötet worden waren, bereits weit in der Entwicklung vorgeschrittene *Corpora lutea* und in der Tube absterbende ungefurchte Eier. In diesen Fällen muß daher die Ovulation wesentlich früher stattgefunden haben als die Begattung. Freilich lebten diese Tiere vorher isoliert, so daß die Annahme sehr nahe liegt, daß sie schon vor der Zulassung der Männchen — zur Zeit des Follikelsprungs — brünstig waren, jedoch in Ermangelung einer Gelegenheit zum Koitus den durch die Eireifung und den Follikelsprung geweckten Geschlechtstrieb noch eine Zeitlang beibehielten und erst in einem späteren Zeitpunkt befriedigten.

Sprechen schon diese Tatsachen dafür, daß die Ovulation bei den Ratten nicht durch den Koitus ausgelöst wird, sondern, wie dies u. a.

auch *Sobotta* und *Burckhard* hervorheben, spontan erfolgt, so wird dies noch deutlicher durch drei andere Versuche erwiesen, in denen wir bei virginellen, andauernd isoliert aufgezogenen Ratten *Corpora lutea* vorfanden.

Wir hätten vielleicht genauere zeitliche Beziehungen zwischen dem Zeitpunkte der Ovulation und jenem der Operation herstellen können, wenn wir Tiere verwendet hätten, welche sich unmittelbar nach dem Wurf befanden. Bekanntlich ovulieren die Ratten wie viele andere Säugetiere kurze Zeit nach dem Wurf und nehmen dann auch regelmäßig das Männchen auf. *Sobotta* und *Burckhard* konnten bei solchen Tieren in 90% der Fälle durch den Nachweis der befruchteten Eier den Beleg für die stattgefundene, aber nicht direkt beobachtete Begattung erbringen. Andererseits hatte unsere Versuchsanordnung den Vorteil, daß wir keine puerperalen Genitalveränderungen in Rechnung zu ziehen hatten. —

Die operierten Tiere wurden in verschiedenen Zeiträumen nach der Operation mit Äther oder Chloroform getötet. Die kürzeste Frist zwischen Operation und Tötung betrug 10 Stunden, die längste 62 Tage. Wir verfügen im ganzen über 44 Versuche.

Das ganze Genitale wurde lebenswarm in die Fixierungsflüssigkeit eingelegt. Als solche verwendeten wir zuerst Sublimat-Pikrinsäure, später meist *Held-Kolmersche* Flüssigkeit (Kalium bichromat, gesättigt 4, Formol 10% 4, Eisessig 1), in einigen Fällen *Bouinsche* Flüssigkeit. Ein Teil der Präparate wurde einer Stückfärbung mit Cochenillealaun unterworfen und mitunter im Schnitt mit Bleu de Lyon nachgefärbt, die meisten wurden aber einer Schnittfärbung mit Hämatoxylin-Eosin, einige einer Färbung mit Parakarmin oder mit Eisenhämatoxylin-*Van Gieson* unterzogen. Alle Präparate wurden in Paraffin eingebettet und bis zur Ligaturstelle in lückenlose Reihenschnitte zerlegt, wodurch sich die Arbeit angesichts der großen Zahl von Versuchen mühsam und sehr langwierig gestaltete.

Versuchsergebnisse.

Die erste Versuchsreihe galt der Frage, ob es bei *Mus decumanus* möglich sei, eine künstliche Extrauterin gravidität zu erzeugen. Die Versuche wurden daher mit Weibchen ausgeführt, welche vorher von normalen Männchen begattet oder mit solchen längere Zeit zusammen gehalten worden waren. Gleich der erste Versuch ergab nun ein überraschendes Resultat.

Bei der betreffenden Ratte, welche längere Zeit mit normalen Männchen zusammengelebt hatte, wurden am 30. X. 1919 die Adnexe durch je einen Flankenschnitt freigelegt und jedes Uterushorn an der Einmündungsstelle der Tube fest unterbunden. Die Tötung erfolgte

am 11. XI. 1919. Fixierung des Uterus und der Adnexe in Sublimat-Pikrinsäure, Einbettung in Paraffin, Stückfärbung mit Cochenillealaun, Zerlegung in Serienschritte von $10\ \mu$ Dicke und Nachfärbung mit Bleu de Lyon.

Das Ovarium zeigt einzelne ältere und mehrere in Blüte befindliche *Corpora lutea*. Einzelne von diesen enthalten einen kleineren

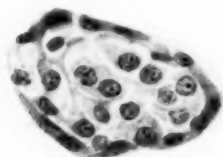


Abb. 1. Freier Zellballen im Periovarialraum. 11 Tage nach Unterbindung des Uterushorns. Vor der Operation Gemeinschaft¹⁾ mit normalen Männchen. Vergr. 400 f.

Abb. 1). Außerdem sieht man einige kleine, unregelmäßige, aus derartigen Zellen bestehende Verbände und zahlreiche vereinzelt liegende

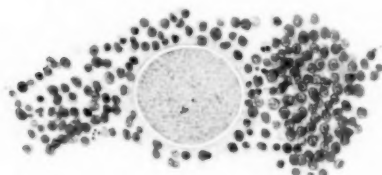


Abb. 2. Ungefurchte Eizelle in der Tube von Granulosazellen (G) umgeben. 11 Tage nach der Operation. Vorher Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 300 f.

gerufen hat. In der Tube befinden sich mehrere von Granulosazellen umgebene ungefurchte Eier (Abb. 2). Eines derselben enthält zwei

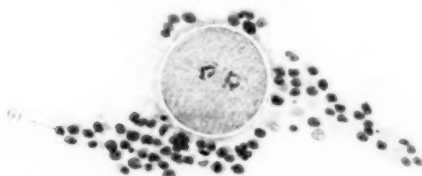


Abb. 3. Eizelle in der Tube mit zwei Vorkernen. Aus demselben Versuch wie Abb. 2. Vergr. 300 f.

glatten Ovarialkapselendothels, noch auf solche des Ovarialgewebes zurückgeführt werden konnten, so erschien die Annahme am meisten

¹⁾ Wir sprechen von „Gemeinschaft“ in jenen Fällen, bei welchen der Koitus selbst nicht beobachtet wurde.

zentralen Hohlraum. Im Übrigen bietet sich das normale Bild des Rattenovariums mit verschieden großen Follikeln und reichlichem interstitiellen Gewebe dar. Die Ovarialkapsel ist mäßig erweitert. Im Periovarialraume nun finden sich als besonders auffällige und ungewöhnliche Gebilde einige maulbeerförmige Zellkomplexe vor, welche ausschließlich aus polygonalen Zellen mit runden Zellkernen und deutlichen Kernkörperchen bestehen (vgl. die Tube ist erweitert, an ihrem Fimbrienende offen, vor ihrer Einmündungsstelle in den Uterus durch eine Ligatur verschlossen, welche in ihrer Umgebung eine mäßige Fremdkörperreaktion mit Riesenzellenbildung hervor-

Als auffallendster Befund erschienen uns die erwähnten freien Zellballen im Periovarialraum. Da sie weder auf eventuelle Wucherungen oder Abschnürungen des völlig

naheliegend, daß es sich um Abkömmlinge von Eiern handle, welche im Periovarialraum zurückgehalten worden waren und sich unter dem Einflusse der für sie abnormen Umwelt zu diesen Zellballen weiter entwickelt hatten. Zur Zeit als das Tier getötet wurde, zeigten diese Gebilde bereits starke Zerfallserscheinungen, die sich namentlich in einer Lockerung des Zellverbandes äußerten. In der Tube fanden sich — wie erwähnt — ungefurchte Eier.

Es galt nunmehr festzustellen, ob diese Annahme die richtige sei, ob ferner diese Zellballen einen seltenen Befund darstellen, oder ob sich ein solcher Befund häufiger erheben läßt, ferner ob, beziehungsweise inwiefern er mit der ausgeführten Operation zusammenhängt.

Um diesen Fragen näher zu treten, wurden 23 Versuche an Weibchen ausgeführt, welchen Gelegenheit zum Koitus mit normalen Männchen geboten wurde. In 10 Fällen gelang es uns, den mehrmals ausgeführten Koitus zu beobachten, in 13 Fällen wurde der Sprung nicht beobachtet und mußten wir uns mit der Annahme, daß er stattgefunden habe, begnügen. Mitunter beobachteten wir bei den ersteren Fällen nach dem Koitus einen bröckligen Pfropf in der Vagina (*Vaginalpfropf*), der zahlreiche Spermatozoen enthielt, doch wurden die Tiere nicht regelmäßig auf dieses Merkmal des stattgefundenen Koitus hin untersucht. Die Ratten wurden kurze Zeit, spätestens wenige Stunden nach der Begattung, beziehungsweise — falls der Koitus selbst nicht beobachtet wurde — nach der Entfernung von den Männchen operiert, wobei in 13 Fällen bloß ein Uterushorn, in 10 Fällen beide Hörner ungefähr 3 mm unterhalb der Einmündungsstelle der Tuben in den Uterus unterbunden wurden. Die Tiere wurden in verschiedenen Zeiträumen nach der Operation, welche zwischen 10 Stunden und 25 Tagen schwankten, in einem Falle sogar erst nach 2 Monaten, getötet. In 12 Fällen wurden die Geschlechtskanäle und Ovarien der beiden Körperseiten auf Serienschnitten untersucht, in 11 Fällen begnügten wir uns mit der Untersuchung des abgebundenen Genitalabschnittes.

Es zeigte sich nun, daß die bereits geschilderten eigenartigen Zellballen im Periovarialraum keine seltenen Befunde darstellen. Bei den erwähnten 23 Versuchen begegneten wir ihnen in 15 Fällen. Sie stellen kugelige oder ovoide Gebilde dar, welche aus im Querschnitt polygonal erscheinenden epitheloiden Zellen mit runden Kernen bestehen. Mitunter sind die Zellen der äußersten Lage abgeplattet. Ob diese Formveränderung der äußeren Zellage eine besondere Differenzierung darstellt, oder nur durch die Spannungsverhältnisse in der Zellkugel mechanisch bedingt ist, ließ sich nicht entscheiden.

In der Annahme, daß wir es bei diesen eigentümlichen Zellkomplexen mit Teilungsprodukten von Eiern zu tun hätten, hofften wir

durch Einschaltung einer verschiedenen langen Beobachtungsdauer nach der Operation, beziehungsweise nach dem Koitus, die verschiedensten Stadien der Entwicklung dieser Gebilde zu Gesicht zu bekommen. Leider wurde diese Hoffnung nur bis zu einem gewissen Grade erfüllt.

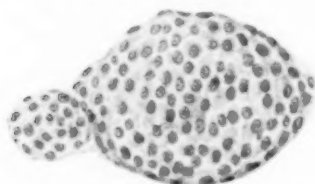


Abb. 4. Freier Zellballen im Periovarialraum, 22 Tage nach Unterbindung des Uterushorns. Vor der Operation Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 250/1.

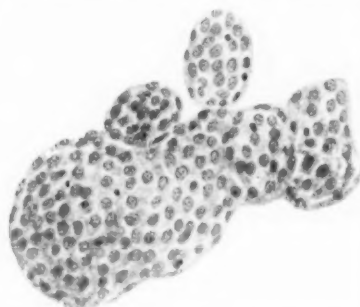


Abb. 5. Freier Zellballen im Periovarialraum, 18 Tage nach Unterbindung des Uterushorns. Vor der Operation Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 210/1.

Dies hängt mit dem bereits angeführten Umstände zusammen, daß der Koitus häufig nicht mit der Ovulation zusammenfiel. Daher konnte es uns nicht wundernehmen, konnte unsere Ansicht aber auch nicht umstoßen, wenn wir bei unserem ersten Versuche trotz einer

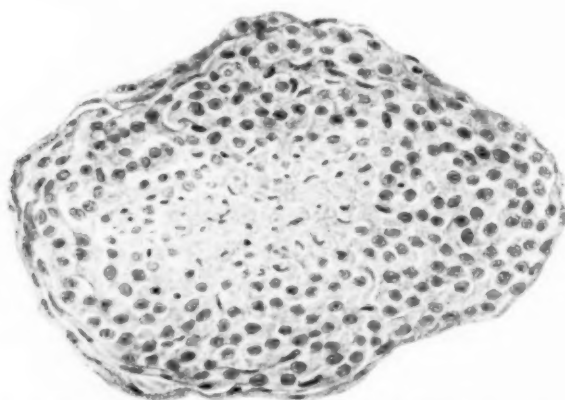


Abb. 6. Freier Zellballen im Periovarialraum, 18 Tage nach Unterbindung des Uterushorns. Vor der Operation Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 300/1.

bloß 13-, beziehungsweise 18stündigen Beobachtungsdauer (je nachdem ob wir diese vom ersten oder vom letzten beobachteten Koitus berechneten) ein derartiges Gebilde vorfanden, welches schon deutliche Zerfallerscheinungen aufwies, während wir bei unserem zweiten Versuche mit einer 14-, beziehungsweise 19stündigen Beobachtungszeit derartige Gebilde vollständig vermißten. In beiden Fällen bewiesen

das vorgerückte Entwicklungsstadium der *Corpora lutea* und der vorgeschrittene Zerfall der in der Tube befindlichen ungeführten Eier, daß die Ovulation schon vor längerer Zeit stattgefunden haben mußte. Immerhin konnten wir bei unseren Versuchen einen gewissen Parallelismus zwischen der Zeitdauer nach der Operation und dem Zustande der vorgefundenen Zellballen feststellen, indem wir bei den Fällen mit kürzerer Beobachtungsdauer der operierten Tiere im allgemeinen die besterhaltenen Zellballen und in diesen auch Mitosen beobachteten.

Diese Zellballen wiesen nun verschiedene Gesamtformen auf. Sie waren oft kugelig, besaßen aber auch manchmal eine längliche Gesamtform und zeigten nicht selten Einschnürungen, so daß sie aus mehreren, meist ungleich großen Ab-

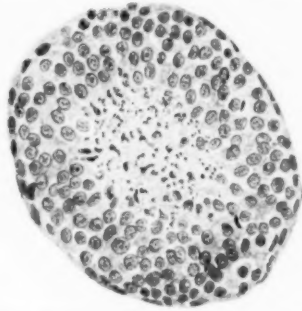


Abb. 7. Freier Zellballen im Periovarialraum. 25 Tage nach Unterbindung des Uterushorns. Vor der Operation Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 300 f.

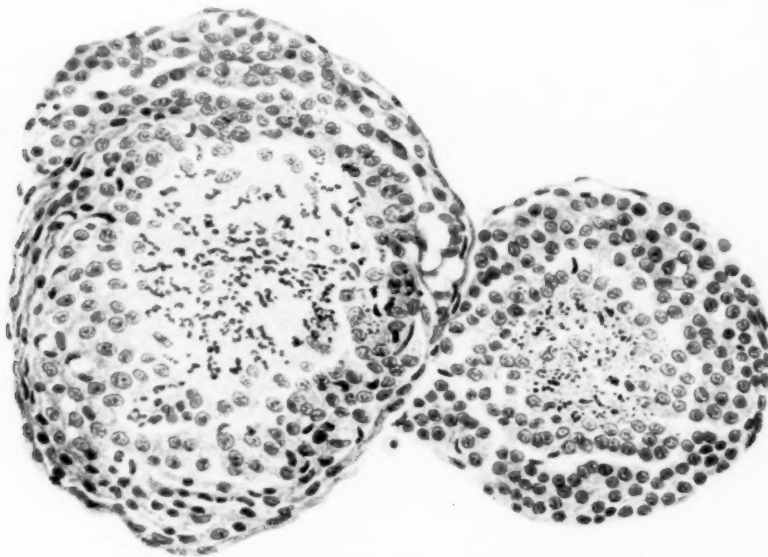


Abb. 8. Freier Zellballen im Periovarialraum. 25 Tage nach Unterbindung des Uterushorns. Vor der Operation Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 300 f.

schnitten bestanden. In manchen Fällen sitzt ein derartiger kleiner Abschnitt knospenartig dem Hauptstück auf. Mitunter sieht man auch mehrere solcher knospenartiger Abschnitte (vgl. Abb. 4 und 5). Da



Abb. 9. Freier Zellballen in einer nischenartigen Einbuchtung des Ovariums. 25 Tage nach der Operation. Vorher Gemeinschaft mit sterilisierten Männchen. Vergr. 100:1. *Ov* Ovarium.

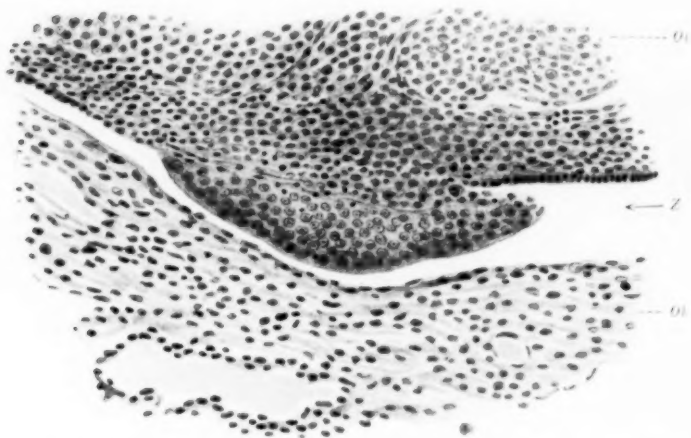


Abb. 10. Der Ovarialrinde (*Ov*) pilzförmig aufsitzender Zellballen (Z). *Ov* Ovarialkapsel. Mangel des Keimepithels an der Haftstelle. 24 Stunden nach der Operation. Vorher Koitus mit normalen Männchen. Vergr. 250:1.

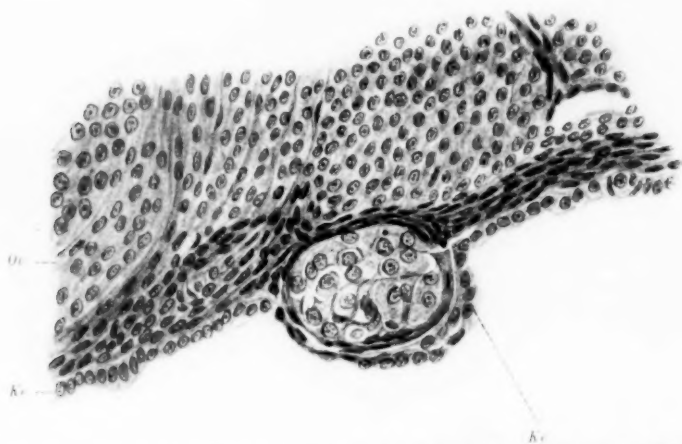


Abb. 11. Zellballen in der Ovarialrinde (Oe) vom Keimepithel (Ke, Ke₂) überzogen; Verdrängung des Ovarialstromas. 6 Tage nach der Operation. Vorher Koitus mit normalen Männchen. Vergr. 300 L.

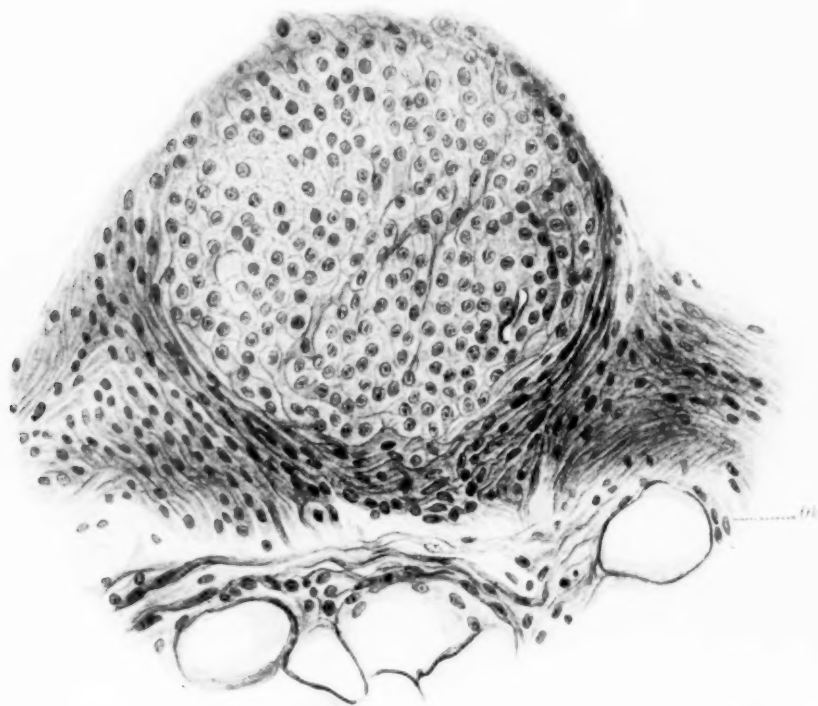


Abb. 12. Zellballen an der Kapselwand (Ok), vom Kapselendothel überzogen. 6 Tage nach der Operation. Vorher Koitus mit normalen Männchen. Vergr. 300 L.

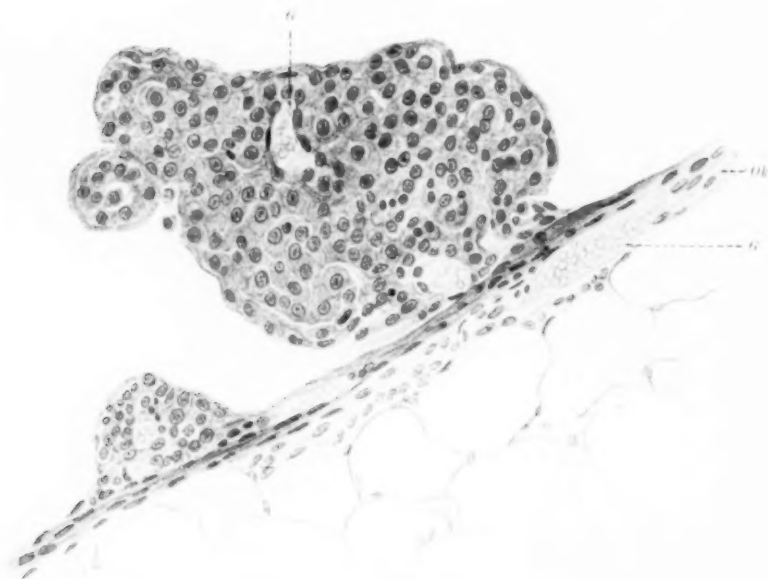


Abb. 13. Der Ovarialkapsel (*Ol*) angewachsene vaskularisierte Zellballen. 18 Tage nach der Operation. Vorher Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 300/1. *G* Blutgefäße.

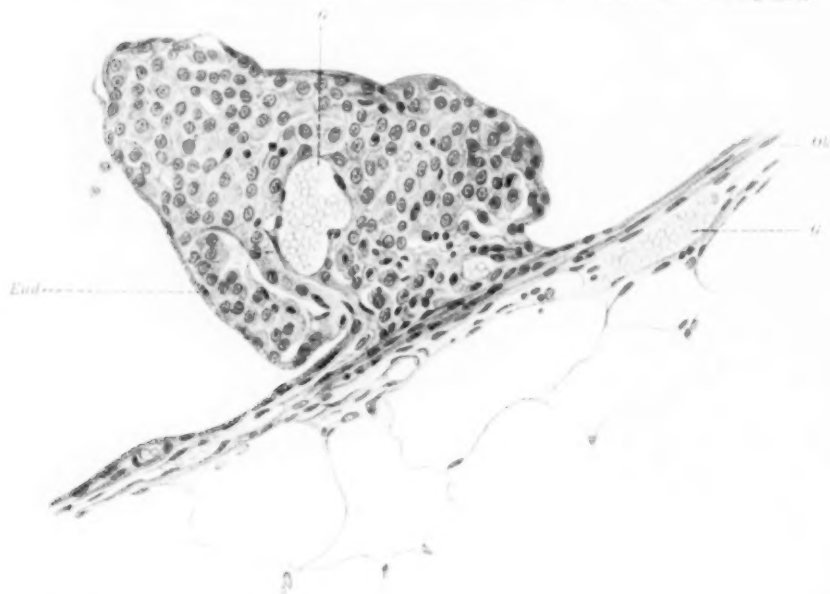


Abb. 14. Ein ähnlicher Zellballen wie in Abb. 13 aus denselben Versuche. Vergr. 300/1. *End* Ovarialkapselendothel.

man in manchen Präparaten auch größere und kleinere Zellballen vollkommen voneinander getrennt vorfindet, liegt die Vermutung nahe, daß es sich bei ihnen um die Produkte der Abtrennung kleiner Abschnitte von einem größeren Zellballen handelt.

Eine andere Art von Veränderungen besteht darin, daß in diesen Zellballen die zentral gelegenen Zellen zerfallen. Die Mitte des Zellballens wird dann von einer Zerfallsmasse eingenommen, in welcher sich einige, den verwendeten Farbstoff annehmende Stäbchen und Körnchen zerstreut vorfinden. Es sind dies offenbar die Reste des Chromatins (vgl. Abb. 6, 7, 8).

Die meisten dieser Zellballen liegen frei im Periovarialraum, teils zwischen Ovarium und Ovarialkapsel, teils, wie in dem in der Abb. 9



Abb. 15. An der Ovarialkapsel sitzender, gefäßhaltiger Zellballen. 3 Tage nach der Operation. Vorher Gemeinschaft mit normalen Männchen. Vergr. 300/1. Bezeichnungen wie bei den früheren Abbildungen.

wiedergegebenen Falle, in einer der Nischen der Ovarialoberfläche. Ein besonderes Interesse beanspruchen jene merkwürdigen Gebilde, welche im allgemeinen denselben Aufbau zeigen wie diese Zellballen, welche jedoch nicht frei im Periovarialraume liegen, sondern mit der Ovarialoberfläche oder — was häufiger der Fall ist — mit der inneren Oberfläche der Ovarialkapsel fest verwachsen sind. Manchmal liegen sie der Wand des Periovarialraums bloß an, wobei man den Eindruck gewinnt, daß sie mit ihr nicht verwachsen, sondern nur verklebt sind. Die Berührungsfläche ist entweder schmal, so daß das betreffende Gebilde pilzförmig der Unterlage aufsitzt, oder aber breit (vgl. Abb. 10). Besonders fallen jene Fälle auf, bei welchen die Zellballen mit ihrer Unterlage fest verwachsen sind. Wie man aus der Abb. 11 erschen kann, erscheinen sie dann oft wie eingegraben in Vertiefungen der Ovarialrinde (Abb. 11) oder der Ovarialkapsel (Abb. 12–15). Allein

sie ruhen dabei nicht einfach dem Keimepithel beziehungsweise dem Kapselendothel auf, sondern sie sind vielmehr von einer Epithellage überzogen, welche die Fortsetzung des benachbarten Keimepithels (Abb. 10, Ke_1), beziehungsweise des Kapselendothels (Abb. 14, End) darstellt. An der Anheftungsstelle des Zellballens selbst fehlt das Keimepithel beziehungsweise Kapselendothel, so daß man zu dem Schluß gelangen muß, daß die Zellballen das Epithel an der Anheftungsstelle zerstört haben — in der Tat sitzen sie auch direkt dem Bindegewebe des Ovariums, beziehungsweise der Ovarialkapsel auf — und daß hierauf das Keimepithel, beziehungsweise das Kapselendothel von der Umgebung der Anheftungsstelle über die Zellballen herübergewachsen ist.

In vorgeschrittenen Fällen (Abb. 13, 14, 15) läßt sich ferner nachweisen, daß speziell in jene Zellballen, welche mit der Ovarialkapsel verwachsen, Blutgefäße (G) aus der Kapselwand eingedrungen sind. Die Gefäße der Kapselwand erscheinen in diesen Fällen erweitert — eine Veränderung, die offenbar unter dem Einfluß der Zellballen selbst erfolgt ist. Von diesen erweiterten Gefäßen sieht man Kapillaren in die Zellballen vordringen, wodurch diese in einzelne Zellstränge zerteilt werden, zwischen denen mit Blutkörperchen dicht gefüllte Gefäße liegen¹⁾.

¹⁾ Hier sei noch ein Fall erwähnt, der ein eigenartiges, von der Regel abweichendes Bild darbot. Normalerweise wird die Ovarialkapsel, deren Haupt-

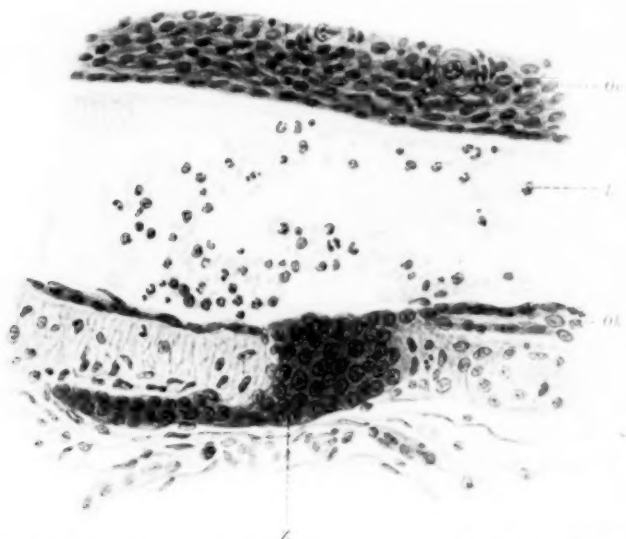


Abb. 16. Breiter Zellapfen (Z), der die Ovarialkapsel (Ok) durchbricht und sich in einer unter ihr gelegenen Lymphspalte ausbreitet. Aus demselben Versuch wie Abb. 9. Vergr. 300 \times .

L Leukozyt; Ok Ovarium.

Es drängt sich nunmehr die Frage auf, welcher Natur diese eigenartigen Zellballen sind. In der Literatur finden wir keine derartigen Beobachtungen verzeichnet. Wir sind daher in Anbetracht des Umstandes, daß normale Rattenovarien außerordentlich oft untersucht wurden, ohne daß man diese Zellballen jemals vorgefunden hätte, berechtigt, anzunehmen, daß diese Gebilde im normalen Geschlechtsapparat nicht vorkommen und daß sie daher als Folgen unserer Versuchsanordnung aufzufassen sind.

masse aus parallelfaserigem, fibrillärem Bindegewebe besteht, von einem flachen Endothel überzogen. Nur dann, wenn die Kapsel eine starke leukocytaire Infiltration zeigt, werden die Endothelzellen stellenweise höher und wölben sich polsterförmig vor, wie man dies auch sonst an Endothelzellen bei entzündlichen Prozessen beobachten kann. Eine solche entzündliche Schwellung der Endothelzellen war auch in diesem Falle an mehreren Stellen zu sehen. Auffallend ist nun aber, daß in diesem Fall kleine, ovoide, aus Epithelzellen bestehende Gebilde an mehreren Stellen der Kapselwand innig anhaften, teilweise auch in flachen nischenförmigen Vertiefungen liegen. Die Zellen dieser Gebilde gleichen den Zellen der frei im Periovarialraum befindlichen epithelialen Formationen, welche übrigens auch bei diesem Fall vorhanden waren (Abb. 10). Der in dieser Abbildung dargestellte Zellballen sitzt dem Ovarium breitbasig auf, ohne jedoch mit ihm verwachsen zu sein. Ein besonders merkwürdiges Verhalten zeigt nun eine Stelle der Ovarialkapsel. Hier sieht man (Abb. 16 und 17, Z), daß ein breiter Zellzapfen zunächst senkrecht von der Oberfläche der Ovarialkapsel in die Tiefe eindringt (Abb. 16), um nach kurzem Verlauf um 90° umzubiegen und sich in dieser Verlaufsrichtung eine Strecke weit — augenscheinlich in einer

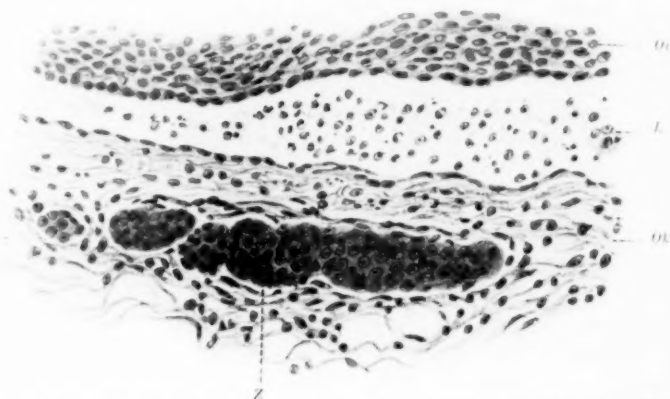


Abb. 17. Ein anderer Schnitt durch den in Abb. 16 dargestellten Zellzapfen. Vergr. 200 \times .

Lymphspalte — auszubreiten (Abb. 17). Die Zellen, aus welchen sich dieses Gebilde zusammensetzt, weisen gegenüber jenen, aus welchen die frei im Periovarialraum befindlichen Zellballen bestehen, keine morphologischen Unterschiede auf, so daß man wohl schließen kann, es sei in diesem Falle eine aktive Einwucherung eines Zellballens in das Kapselbindegewebe erfolgt.

Der eventuellen Annahme, daß es sich hierbei um Abschnürungen der Ovarialoberfläche oder der Ovarialkapsel handle, widerspricht vor allem die Verschiedenheit des histologischen Aufbaues dieser Zellballen gegenüber jenem des Ovariums und der Ovarialkapsel — rein epitheliale Gebilde, völliger Mangel an Bindegewebszellen — und ferner auch der Umstand, daß die zu erwartenden einzelnen Etappen des angenommenen Abschnürungsvorganges niemals beobachtet werden konnten, obzwar die Zahl unserer Versuche groß genug war. — Auch die eventuelle Annahme, daß es sich bei diesen Zellballen um eine Weiterentwicklung von Granulosazellen, welche beim Follikelsprung in Begleitung der Eizelle ausgestoßen wurden, handle, läßt sich nicht begründen. Denn eine weitere Entwicklung solcher Zellen, welche nach ihrer Herkunft aus dem *Discus proligerus* als Diskuszellen bezeichnet werden, wurde in keinem Fall beobachtet und ist auch durchaus unwahrscheinlich. Ferner spricht gegen diese Annahme die Tatsache, daß wir im Periovarialraum häufig, namentlich bei gleichzeitigem Vorhandensein der fraglichen Zellballen einzelne oder in lockeren Häufchen beisammenliegende runde, kleine Zellen vorfanden, welche zweifellos solche Granulosazellen waren, die sich aber von den Zellen der unser Interesse fesselnden Gebilde sowohl durch ihre Größe und Form, als auch durch die Beschaffenheit ihrer Kerne deutlich unterschieden. — Auch an den die Tubencier begleitenden Granulosazellen konnten wir niemals eine Weiterentwicklung feststellen.

Es bleibt daher nur die Annahme übrig, daß wir in den geschilderten eigenartigen Gebilden Eier zu erblicken haben, die nach der Ausstoßung aus dem Follikel im Periovarialraum liegen blieben, sich hier rasch teilten und auf diese Weise jene vielzelligen Gebilde aus sich entstehen ließen. Dafür, daß es sich um ausgestoßene, weiter entwickelte Eier handelt, sprechen außer rein histologischen auch noch Gründe anderer Art. Hier ist vor allem auf den bereits erwähnten Umstand zu verweisen, daß diese Zellballen, wenn sie sich an der Ovarialoberfläche oder an der Ovarialkapsel festsetzen, das Keimepithel beziehungsweise Kapselendothel an der Anhaftungsstelle zerstören und bis zum Bindegewebe vordringen. Es verhalten sich also die Zellen der fraglichen Gebilde gegenüber den Zellen des Mutterorganismus genau so, wie die Zellen des befruchteten Eies gegenüber den Zellen des Uterus oder der Tube. Wie ferner an der Einbettungsstelle des befruchteten Eies in der Uterus- oder in der Tubenwand eine reiche Vaskularisation eintritt, so erweitern und vermehren sich vielleicht auch die Blutgefäße an der Anheftungsstelle unserer Zellballen. Das befruchtete und implantierte Ei wird ferner bekanntlich vom Uterus, beziehungsweise vom Tubenepithel umwachsen. In analoger Weise werden, wie wir sahen, auch unsere mit der Ovarial- oder mit der Ovarialsackoberfläche verwachsenen Zell-

ballen vom Keimepithel, beziehungsweise vom Ovarialsackendothel umwachsen. Der Einfluß also, den diese Zellballen auf die Gewebe des Mutterorganismus ausüben, ist im wesentlichen der gleiche, wie jener, den die befruchtete Eizelle auf die mütterlichen Gewebszellen ausübt, weshalb wir wohl berechtigt sind, die Elemente dieser Zellballen als Abkömmlinge der Teilung von Eiern aufzufassen, eine Schlußfolgerung, welche sich übrigens schon aus dem Aufbau dieser Zellballen ergab; denn ein derartiges Konglomerat von epithelialen Zellen, wie es ein solcher Zellballen darstellt, gleicht unverkennbar einem abgefurchten Keim, einer »Morula«, wenn auch die Zellen so dicht aneinander schließen, daß es nicht zur Bildung einer Furchungshöhle kommt. Nur die Annahme, daß es sich hier um — wenn auch in abnormer Weise — gefurchte Eier handelt, vermag uns einen Aufschluß über das Wesen dieser Zellballen zu vermitteln.

Für diese Annahme spricht ferner ein gewisser *Parallelismus in der Entwicklung dieser Gebilde und der Corpora lutea*. In jenen Fällen, bei welchen man junge Entwicklungsstadien der *Corpora lutea* vorfindet, findet man auch gut erhaltene Zellballen, ohne Zerfallerscheinungen in deren Zentrum, in den jüngsten Stadien auch Zellkomplexe mit Mitosen. In vorgeschrittenen Stadien der *Corpus-luteum*-Entwicklung dagegen weisen die Zellballen bereits die beschriebenen (Abb. 6—8) Zerfallerscheinungen in ihrem Inneren auf.

Dieser Deutung entspricht endlich auch das Fehlen dieser Zellballen im ersten Falle einer weiteren Versuchsreihe. Bei dieser Versuchsgruppe handelte es sich um sechs sicher *virginelle* Tiere, welche seit ihrer Säuglingszeit isoliert aufgezogen wurden. Bei diesen Tieren wurde, ohne vorhergehende Begattung, der Uterus auf einer Seite unterbunden, worauf sie in fünf Fällen in Zwischenräumen von 12 Stunden bis zu 14 Tagen getötet wurden. Im 6. Versuche wichen wir von unserer Versuchsanordnung ab. Hier wurde das Tier einige Wochen nach der Operation von einem nur einseitig sterilisierten Männchen begattet und es war nun auch zur Zeit der Tötung (zwei Monate nach der Operation) auf der nicht unterbundenen Seite gravid. Im ersten von diesen sechs Fällen handelte es sich nun um ein noch nicht geschlechtsreifes Tier, dessen Ovarium daher bei der histologischen Untersuchung keine *Corpora lutea* aufwies. — Freilich fielen auch die fünf anderen Versuche negativ aus, obwohl hier *Corpora lutea* zu sehen waren. Da jedoch keines dieser Tiere besprungen wurde und wir infolgedessen keinen Anhaltspunkt für den Ovulations- resp. Brunsttermin hatten, so war offenbar der Zeitpunkt der Operation dieser Tiere nicht glücklich gewählt. Dafür spricht auch der Umstand, daß wir in diesen Fällen weder im Periovarialraume, noch in der Tube Eier auffinden konnten, so daß wir annehmen müssen, daß die Eier in

diesen Fällen zur Zeit der Operation die Tube bereits passiert hatten oder aber bereits zugrunde gegangen waren. —

Als Abkömmlinge von Eiern sind also die fraglichen Zellballen sicher aufzufassen. Vergegenwärtigt man sich nun die geschilderte Art und Weise, wie sie sich zum mütterlichen Organismus verhalten: Daß sie nämlich das Keimepithel, beziehungsweise das Ovarialkapselendothel zerstören und bis zum Bindegewebe vordringen; daß sie ferner an ihrer Anheftungsstelle eine reiche Vaskularisierung verursachen und selbst mit den mütterlichen Gefäßen in Beziehung treten; daß sie endlich vom Keimepithel, beziehungsweise vom Ovarialkapselendothel umwachsen werden — so ergibt sich eine unverkennbare Analogie mit dem Verhalten befruchteter Eier bei ihrer Anheftung im Uterus oder außerhalb desselben. Bei unseren Zellballen handelt es sich um eine Anheftung außerhalb des Uterus, so daß man hier in gewissem Sinne von *experimentell erzielter Extrauterin gravidität* sprechen kann. Sie ist *lediglich durch Behinderung der normalen Fortbewegung der Eier*, also rein mechanisch, bewirkt worden. Entzündliche oder sonstige pathologische Veränderungen der Anheftungsstellen, also des Ovariums und der Ovarialkapsel, waren bei unseren Versuchstieren gewiß nicht immer vorhanden, sie sind also wohl zur Entstehung einer Extrauterin gravidität nicht unbedingt nötig. Damit soll natürlich keineswegs behauptet werden, daß speziell bei der menschlichen Extrauterin gravidität nicht auch diese Faktoren eine ursächliche Rolle zu spielen vermögen. —

Da die bisher in Betracht gezogenen Zellballen von Versuchen stammten, bei welchen die betreffenden Weibchen teils sicher von normalen Männchen begattet, teils mit solchen längere Zeit zusammen gehalten worden waren, also wahrscheinlich gleichfalls von ihnen besprungen worden waren, mußte zunächst angenommen werden, daß diese Zellballen ihre Entstehung *befruchteten* Eiern verdanken. Der Umstand, daß sich diese befruchteten Eier nicht normal, sondern zu den geschilderten Zellballen entwickelten, ließe sich darauf zurückführen, daß sich diese Entwicklung unter abnormen, durch die Abbindung der Tube hervorgerufenen Verhältnissen vollzog.

Eine Reihe von weiteren Versuchen lehrte jedoch, daß zur Entstehung dieser eigenartigen Gebilde eine vorherige Befruchtung nicht notwendig ist. Gegen die Annahme einer bei der vorigen Versuchsreihe stattgefundenen Befruchtung sprechen übrigens schon die Angaben von *Sobotta-Burckhard*, nach welchen die Samenzellen bei der Ratte und Maus nicht über den Ampullenteil der Tube hinaus, also nicht in den Periovarialraum gelangen sollen. Indessen wäre es ja immerhin möglich, daß die Samenzellen unter abnormen, also z. B. unter den durch unsere Versuchsanordnung geschaffenen Verhältnissen

bis in den Periovarialraum eindringen und die daselbst liegenden Eier befruchten.

Den sicheren Beweis dafür, daß man die fraglichen Zellballen aus unbefruchteten Eiern entstehen lassen kann, erbrachte uns eine zu diesem Zwecke angestellte Versuchsreihe, bei welcher die Weibchen nur von solchen männlichen Tieren begattet wurden, welchen einige Monate vorher die *Vasa deferentia* und in einigen Fällen auch die *Ductus efferentes testis* doppelt unterbunden und hierauf zwischen den Abbindungsstellen durchtrennt worden waren. Auf diese Weise wurde bei den operierten Männchen eine sichere Sterilisierung, bei Erhaltung des Geschlechtstriebes, erzielt. Die Unfruchtbarkeit dieser Männchen wurde außerdem dadurch erwiesen, daß zu ihnen gesetzte normale Weibchen während einer mehrmonatlichen Beobachtung nicht gravid wurden. Es wurden 12 solcher Versuche angestellt, bei 8 von ihnen wurde der Uterus einseitig, bei



Abb. 18. Freier Zellballen im Periovarialraum. 19 Stunden nach Unterbindung des Uterushorns. 3 Stunden vor der Operation Koitus mit sterilisierten Männchen. Vergr. 400:1.

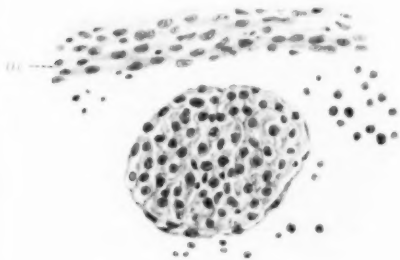


Abb. 19. Frei im Periovarialraume (Ovarialoberfläche liegender, von Leukozyten und Granulosazellen umgebener Zellballen. Vorherige Begattung mit einem sterilisierten Männchen. 46 Stunden nach der Abbindung getötet. Vergr. 180:1.



Abb. 20. Unregelmäßig geformter Zellballen mit knospenförmigen Auftreibungen. Vorherige 2tägige Gemeinschaft mit einem sterilisierten Männchen. 5 Tage nach der Operation getötet. Vergr. 180:1.

den übrigen beiderseitig unterbunden. Die operierten Tiere wurden in verschiedenen Zwischenräumen nach der Operation getötet — der kürzeste Zeitraum betrug 17 Stunden, der längste 12 Tage. Im übrigen war die Versuchsanordnung dieselbe wie in der ersterwähnten Versuchsreihe.

Die Begattung der Versuchstiere wurde in vier Fällen unmittelbar beobachtet, in den übrigen darf sie wohl als stattgefunden angenommen werden. Im übrigen betrachten wir die Begattung lediglich als ein

Anzeichen für die Brünstigkeit der weiblichen Tiere, ohne ihr — mit Rücksicht auf den Umstand, daß die Ovulation bei der Ratte auch spontan erfolgen kann — einen wesentlichen Einfluß auf die Versuchsergebnisse beizumessen.

Bei 6 von diesen Versuchstieren konnten nun zahlreiche Zellballen im Periovarialraume festgestellt werden, welche sich sowohl ihrem morphologischen, wie auch ihrem sonstigen Verhalten nach in keiner Weise von den bereits beschriebenen unterschieden. Derartige Zellballen erblicken wir in der Abb. 18 u. 19 und können feststellen, daß sie aus locker aneinanderliegenden epitheloiden Zellen bestehen, während sich an ihrer Oberfläche langgestreckte, abgeplattete Zellen vorfinden. Die kleineren der den Zellballen in Abb. 19 umgebenden Zellen sind

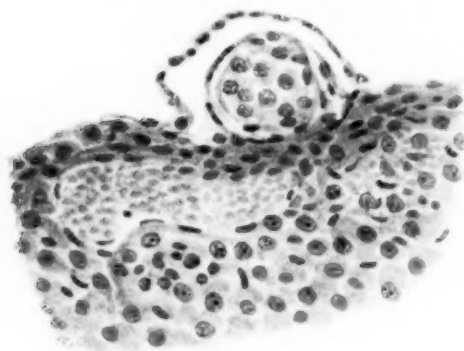


Abb. 21. Dem Ovarium aufsitzender und von Keimepithel überzogener Zellballen. Vorherige Gemeinschaft (2 Tage) mit einem sterilisierten Männchen. Getötet 3 Tage nach der Operation. Vergr. 400 \times .

Leukozyten, die größeren Granulosazellen. Während dieser Zellballen kugelig ist, weist der in Abb. 20 wiedergegebene jene unregelmäßige Gesamtform auf, wie sie uns bereits bei dem Zellballen der Abbild. 5 entgegentrat: Der Hauptmasse des Zellballens sitzen knospenförmig kleinere Zellgruppen auf. Gesamtform und histologischer Aufbau sind also bei den Zellballen dieser und

der zuerst besprochenen Versuchsreihe vollkommen gleich. Was die Lage dieser Zellballen betrifft, so erblicken wir einen von ihnen in der Abb. 19 freiliegend, einen anderen sehen wir in der Abb. 21 in die Oberfläche des Ovariums eingegraben und mit ihr verwachsen, in ähnlicher Weise, wie wir dies im Falle der Abb. 11 der früheren Versuchsreihe beobachten konnten: Das Keimepithel ist an der Anlagerungsstelle zerstört worden und der Zellballen bis an das Bindegewebe vorgedrungen, während das benachbarte Keimepithel den Zellballen selbst umwuchs. — Das Verhalten dieser Zellballen zum mütterlichen Gewebe ist in jeder Hinsicht jenem der Zellballen der ersten Versuchsreihe analog, so daß eine völlige Gleichheit in morphologischer und physiologischer Beziehung besteht.

Die Zellballen der soeben besprochenen Versuchsreihe sind nun zweifellos aus unbefruchteten Eizellen hervorgegangen. Denn diesen

Versuchen gegenüber ist der eventuelle Einwand, daß Samenzellen in den weiblichen Geschlechtskanal und bis in den Periovarialraum gelangt sind, hinfällig, da ja bei diesen Versuchen überhaupt keine Samenzellen in den weiblichen Geschlechtskanal gelangen konnten. Da demnach die vorgefundenen Zellballen sicher aus unbefruchteten Eizellen entstanden sein müssen, so beweist dieser Befund, daß auch das unbefruchtete Säugetierei sich zu teilen und wenigstens in dem Sinne weiter zu *entwickeln* vermag, daß aus ihm ein aus zahlreichen Zellen bestehendes, wenn auch nicht weiter in Keimblätter oder Organe differenziertes Gebilde entsteht. Die Erwartung, daß eine Teilung auch der unbefruchteten Eizelle bei Säugetieren experimentell erzielbar ist, bildete den Anlaß zur Anregung dieser Versuche von Seite Prof. Fischels, und sie ward somit durch unsere Versuchsergebnisse erfüllt.

Diese Teilung des unbefruchteten Säugetiereies erfolgt offenbar sehr *rasch*, ja *stürmisch*, da wir selbst bei Tieren, welche kurz nach der Operation getötet wurden, Ballen vorfanden, welche bereits aus vielen Zellen bestanden. Nachdem eine größere Anzahl von Zellen gebildet ist, kommt es bei den freien Zellballen zu Zerfallserscheinungen in der Mitte der Ballen — offenbar aus dem Grunde, weil der Sauerstoff und das Nährmaterial schwerer zu den im Zentrum gelegenen Zellen gelangen können. An der Peripherie, wo die Ernährungsverhältnisse bessere sind, können die Teilungen noch weiter vor sich gehen und, da dies nicht an allen Punkten der Oberfläche gleichmäßig erfolgt, zur Entstehung knospenartiger Auswüchse, also zur Bildung unregelmäßig geformter Zellballen führen. Die Zerfallserscheinungen können später auch gegen die Peripherie hin vorschreiten, der Zellverband kann sich lockern, worauf die Zellballen in einzelne unregelmäßige Bruchstücke zerfallen.

Im Gegensatze zu den freien Zellballen erhalten sich die mit dem Ovarium oder mit der Ovarialkapsel verwachsenen Zellballen weit länger. Dieses gegensätzliche Verhalten ist wohl auf die bessere Ernährung dieser mit dem mütterlichen Gewebe verwachsenen und von ihm aus vaskularisierten Gebilde zurückzuführen. — Um übrigens festzustellen, ob ein längerer Bestand der Zellballen durch reichlichere Vaskularisierung der mütterlichen Gewebe erzielt werden könne, ließen wir ein einseitig operiertes Weibchen von einem normalen Männchen begatten und erzielten so eine Gravidität im nichtunterbundenen Uterushorn, also eine reiche Gefäßfüllung im Geschlechtskanale dieses Tieres. Es warf zum erwarteten Zeitpunkte 4 Junge und ward dann nochmals gravid, worauf wir es töteten — 2 Monate nach der Unterbindung des einen Uterushornes. Auf der operierten Seite fanden sich nun keine Eier oder deren Abkömmlinge vor, obzwar das Ovarium dieser Seite große Corpora lutea aufwies. Wohl müssen daher auch auf dieser

Seite Eier vom Ovarium abgestoßen worden sein, die sich aber nicht bis zur Tötung des Tieres erhalten hatten. Auch durch gleichzeitige Gravidität auf der nicht operierten Körperseite und die daraus resultierende bessere Vaskularisation des Geschlechtsapparates läßt sich demnach anscheinend ein längeres Fortleben und eine Weiterentwicklung der aus unbefruchteten Eiern entstandenen Zellballen nicht erzielen, sie sind — wenigstens bei unserer Versuchsanordnung — dem baldigen Zerfalle bestimmt. —

Es fragt sich nun, ob auch die bei unserer ersten Versuchsreihe festgestellten Zellballen von unbefruchteten Eizellen herkommen. Da bei dieser Versuchsreihe normale Männchen zur Begattung zugelassen worden waren, scheint es zunächst wahrscheinlicher zu sein, daß es sich bei diesen Zellballen um Abkömmlinge befruchteter Eier handelt. Bedenkt man aber die vollkommene morphologische und physiologische Gleichheit der Zellballen in den beiden Versuchsreihen, so wird man sich kaum dazu entschließen können, diese Zellballen als Gebilde von so wesentlich verschiedener Herkunft, wie es die aus befruchteten und unbefruchteten Eizellen wäre, aufzufassen. Dagegen sprechen auch die Verhältnisse der Kerne: Die sicher aus unbefruchteten Eizellen hervorgegangenen Zellballen der zweiten Versuchsreihe besitzen Kerne von gleicher Größe wie die Zellballen der ersten Versuchsreihe. Und doch handelt es sich bei ihnen um haploide Kerne, während die Zellen von Ballen, welche aus befruchteten Eizellen hervorgegangen wären, diploide, also größere Kerne besitzen müßten. — Befruchtete Eizellen würden sich ferner wohl kaum bloß teilen, ohne irgendwelche Differenzierungen einzugehen, und das Endresultat ihrer Teilung wäre doch wohl schwerlich dasselbe wie jenes der unbefruchteten Eizellen.

Wir sind daher der Meinung, daß auch die bei der ersten Versuchsreihe beobachteten Zellballen von unbefruchteten Eizellen abstammen. Kam es bei dieser Versuchsreihe überhaupt zur Befruchtung von Eiern, so sind diese Eier zugrunde gegangen, da sie sich unter den durch unsere Versuchsanordnung geschaffenen Bedingungen nicht weiter entwickeln konnten. Jene Eizellen jedoch, welche erst nach erfolgter Abbindung der Tube aus dem Ovarium abgestoßen wurden, welche also nicht mehr befruchtet werden konnten, lieferten die von uns beobachteten Zellballen. Mit dieser Annahme stimmen auch die zeitlichen Verhältnisse der einzelnen Versuche sehr gut überein, während sie sich mit der anderen Annahme nicht vereinbaren ließen.

Mag man nun auch diese Auffassung von der Natur der Zellballen der ersten Versuchsreihe als nicht ganz sicher begründet ablehnen, so lehren doch die Ergebnisse der zweiten Versuchsreihe unzweideutig, daß auch beim *Säugetier* eine Teilung von *unbefruchteten* Eizellen möglich ist. Damit ist erwiesen, daß auch der Eizelle der Säuger

eine Eigenschaft zukommt, welche für die Eier von Wirbellosen und von einigen Wirbeltierarten durch die Versuche über künstliche Parthenogenese festgestellt ist. Diese Versuche lehren bekanntlich, daß Reize verschiedener Art — mechanische, thermische, chemische — geeignet sind, unbefruchtete Eier zur Entwicklung anzuregen. Die Reize, welche bei unseren Versuchen die Teilung der Eier veranlaßten, sind in der abnormen Umwelt zu suchen, in welche die im Periovarialraum oder in der Tube zurückgehaltenen Eier infolge der Tubenabbindung versetzt wurden: Die Eier befanden sich in einer Flüssigkeit, welche sich in abnormer Weise im Periovarialraume (und in der Tube) staute und welche sich, ihrer physikalisch-chemischen Natur nach, sehr wesentlich von jener Flüssigkeit unterschied, in welcher die Eier normalerweise sich befinden. Nun wissen wir von den Versuchen über künstliche Parthenogenese her, daß gerade Änderungen des physikalisch-chemischen Charakters der Umwelt der Eizelle geeignet sind, die unbefruchtete Eizelle zur Teilung zu veranlassen. Es ist daher der Schluß erlaubt, daß die Reize, welche bei unseren Versuchen die Eier zur Teilung anregten, in der Flüssigkeit zu suchen sind, welche sich infolge der Abbindung der Eileiter im Periovarialraume und in der Tube staute.

Im Hinblick hierauf ist es nicht ohne Belang, daß zwischen dem Vorhandensein, der Zahl und dem Ausbildungsgrade der Zellballen einerseits und der Menge dieser gestauten Flüssigkeit andererseits eine gewisse Beziehung festgestellt werden konnte: Je größer diese Flüssigkeitsmenge, desto größer war in der Regel die Zahl der Zellballen und desto besser deren Ausbildung. Noch wichtiger in dieser Hinsicht ist die Tatsache, daß auch eine Beziehung zwischen der Zahl der Zellballen und dem Eiweißgehalt dieser Flüssigkeit — soweit er sich nämlich aus der Menge des im fixierten Präparate vorhandenen, mit Eosin färbbaren Gerinnsels erschließen läßt — besteht.

Diese im Periovarialraume und in der Tube vorhandene Flüssigkeit verdankt jedoch ihre Ansammlung nicht bloß einer einfachen Stauung, sondern wohl überdies einer vermehrten Absonderung oder vielleicht auch gleichzeitig einer verminderten Resorption der auch normalerweise hier transsudierenden Flüssigkeit. Es geht dies aus ihrem wechselnden Verhalten in den einzelnen Versuchen und aus ihrer relativen Unabhängigkeit von der Wirksamkeit des mechanischen Verschlusses hervor. Falls Mangel an entsprechendem Nachschub eintritt, kann die vorhandene Flüssigkeit, wie besonders deutlich der Versuch mit zweimonatlicher Dauer beweist, trotz eines andauernden Verschlusses resorbiert werden. Sicherlich aber unterscheidet sich diese unter abnormen Umständen gebildete Flüssigkeit chemisch von der normalerweise im Periovarialraum vorhandenen, und damit erklärt sich auch die Wirkung, welche sie auf die in ihr zurückgehaltenen Eier ausübt.

Welche Kräfte das Verbleiben der Eier im Periovarialraum bewirken und welche Schlüsse man aus unseren Befunden auf den normalen Mechanismus des Eitransportes ziehen kann, soll später näher erörtert werden. Hier sei nur darauf hingewiesen, daß nicht bloß das rein mechanische Hindernis der Abbindung, sondern auch andere, nicht näher bekannte Einflüsse (peritoneale Reizzustände, reflektorische Hemmung!) zu einer Zurückhaltung von Eiern im Periovarialraume führen können, wie es der Befund von Eiern auf der nicht unterbundenen Seite bei zwei Fällen beweist.

Während die Beobachtung der Zellballen im Periovarialraum einen Befund darstellt, für den wir in der Literatur kein Analogon vor-

gefunden, konnten wir an Eizellen im Ovarium und in der Tube Beobachtungen machen, welche bereits wiederholt die Aufmerksamkeit der Untersucher auf sich gelenkt hatten.

Dazu gehört der einmal erhobene Befund einer zweikernigen Eizelle in einem Primordialfollikel, wie dies schon wiederholt beim Menschen und auch bei verschiedenen Tieren beobachtet und verschieden gedeutet wurde (Bonnet, Schottländer, Stockel, H. Rabl u. a.). Da uns dieser vereinzelte Befund keinen An-

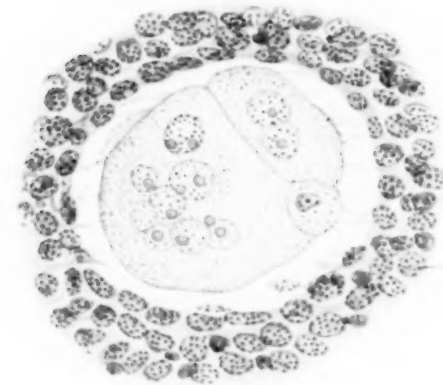


Abb. 22. Geteilte Eizelle in einem atresierenden Follikel. Drei scharf begrenzte, ungleich große, mehrkernige Teilstücke. Vergr. 500 L.

haltspunkt für eine Deutung dieser Anomalie bietet, wollen wir ihn ohne weitere Erläuterungen verzeichnen.

Größeres Interesse erfordern dagegen eigentümliche Veränderungen der Eizellen, welche wir in einer großen Anzahl von *atresierenden Follikeln* beobachteten. Während in atresierenden Follikeln die Eizelle — sofern eine solche noch nachweisbar ist — gewöhnlich als ein unregelmäßig geformtes Gebilde erscheint, welches meist entweder kernlos ist oder einen geschrumpften Kern zeigt, konnten wir in diesen Fällen (Abb. 22 und 23) eine Teilung der Eizelle in mehrere gleiche oder in verschiedenen große, voneinander scharf abgegrenzte Teilstücke feststellen. Die meisten von diesen enthalten einen oder noch häufiger mehrere, manchmal sogar recht zahlreiche Kerne. Gewöhnlich bleiben diese Kerne ungefärbt oder schwach gefärbt, sie sind groß, auf dem Durchschnitte fast kreisrund, und sie enthalten ein oder mehrere Kernkörperchen. Seltener sind sie geschrumpft und gleichmäßig dunkel

gefärbt. Neben kernhaltigen Teilstücken kann man hier und da auch kernlose sehen. Mitosen konnten wir nicht nachweisen. Die einzelnen Teilstücke liegen entweder in einem geschlossenen Verbande und zeigen eine große Ähnlichkeit mit jungen gefurchten Eiern oder sie liegen voneinander losgelöst in der mit Flüssigkeit und Leukozyten erfüllten Höhle des atresierenden Follikels.

Wir haben es hier also mit einer, wenn auch unregelmäßigen Teilung der Eizelle in atresierenden Follikeln zu tun. Ähnliche Befunde wurden bereits von mehreren Autoren (*Flemming, Spuler, Janošik, Hennequy* u. a.) bei verschiedenen Tieren erhoben. Neuerdings hat *Häggström* die in der Literatur niedergelegten Angaben gesammelt und durch eine eigene Beobachtung an einem menschlichen Ovarium bereichert. Während einige von diesen Forschern in diesen Teilungsvorgängen Ansätze zu einer parthenogenetischen Entwicklung erblicken, einzelne diese Bildungen sogar in eine genetische Beziehung zu den Dermoiden und Teratomen der Keimdrüsen bringen, vertritt *Bonnet* die Ansicht, daß diese Veränderungen deshalb nicht als Ausdruck einer parthenogenetischen Furchung angesehen werden dürfen, weil es sich in diesen Fällen nur um eine Teilung unreifer, dem Zerfalle bestimmter Eizellen handle. Er betrachtet diese Vorgänge als eine Art von Polzellenbildung, als eine »degenerative Teilung« oder als eine »Fragmentierung«.

Stellt man sich auf den Standpunkt von *Bonnet*, daß von einer Parthenogenese nur dann gesprochen werden kann, wenn es sich um die Weiterentwicklung eines *reifen*, unbefruchteten Eies handelt, jede Teilung einer unreifen Eizelle dagegen als eine Anomalie zu betrachten sei, die für die Probleme der Parthenogenese nicht in Frage kommen könne, so müßte man freilich den angeführten Teilungsvorgängen an Eizellen in atresierenden Follikeln den Charakter einer parthenogenetischen Entwicklung absprechen. Faßt man dagegen den Begriff der Parthenogenese weiter und versteht man darunter jede Teilung einer

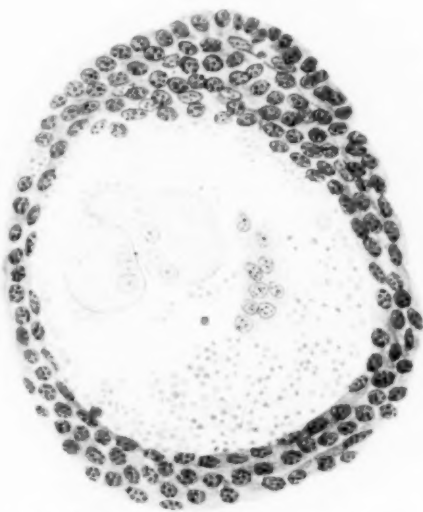


Abb. 23. Geteilte Eizelle in einem atresierenden Follikel. Mehrkernige Teilstücke. Vergr. 400:1.

unbefruchteten Eizelle, welche zur Bildung eines mehrzelligen Komplexes führt, dann wird man auch die geschilderten Veränderungen als parthenogenetische betrachten dürfen. Da der ganze Vorgang mit mehr oder minder deutlich erkennbaren degenerativen Veränderungen der Zellen einhergeht, so wäre der von Hüggyström gebrauchte Ausdruck einer »degenerativen parthenogenetischen Teilung« der Eizellen gerechtfertigt. Im übrigen lassen sich alle diese Befunde zusammen mit den übrigen von uns ermittelten von einem einheitlichen Standpunkt auffassen, wie wir noch sehen werden. —

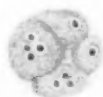


Abb. 24. Tubenei im Vierzellenstadium. Zona pellucida nachweisbar. Mehrkernige Blastomeren. Aus demselben Versuch wie Abb. 5. Vergr. 300/1.

In der *Tube* fanden wir relativ oft Eier. Meist handelte es sich jedoch um ungefurchte Eizellen, welche von einer scharf hervortretenden Zona pellucida umgeben und von Haufen von Granulosazellen begleitet waren (Abb. 2). Das Chromatin ihrer Kerne war entweder auf einen größeren Fleck beschränkt oder auf mehrere kleinere Punkte verteilt. In vielen Fällen zeigten diese Eizellen hochgradige degenerative Veränderungen. Sie waren in blasse, unscharf abgegrenzte Kugeln umgewandelt, während die ihnen anliegenden Granulosazellen besser erhalten waren und sich daher scharf von ihnen abhoben. In zwei Fällen, in welchen den weiblichen Tieren



Abb. 25. Gefurchte Tubeneier. Ungleich große mehrkernige Blastomeren. 1 Tage nach der Operation. Vorher Gemeinschaft mit sterilisierten Männchen. T Tubenwand. Vergr. 300/1.

vor der Operation Gelegenheit zu einem Geschlechtsverkehr mit normalen Männchen geboten war, wurde je ein Ei mit den beiden Vorkernen gefunden (Abb. 3). Eine Entwicklung befruchteter Eier konnten wir nur bis zum Vierzellenstadium beobachten (Abb. 24). Das Chromatin der Zellkerne dieser Eier zeigte degenerative Veränderungen, es war verklumpt und stark gefärbt.

Bemerkenswert, besonders mit Rücksicht auf die im Periovarialraume vorgefundenen Bildungen, ist nun der Umstand, daß wir auch

an unbefruchteten Tubeneiern Teilungsvorgänge nachweisen konnten. Die Teilung ist entweder vollständig, so daß ganz ähnliche Gebilde entstehen wie bei der Teilung normaler befruchteter Eier (Abb. 25), oder es kommt durch Teilungen in ungleich große, unregelmäßig angeordnete Stücke zur Entstehung eigentümlicher Gebilde, wie wir dies in einem unserer Versuche beobachten konnten (Abb. 26). Einige der diese Gebilde zusammensetzenden Zellen oder Protoblastmabruchstücke sind kernlos, während andere wieder bis zu fünf Kernen besitzen. Es handelt sich hierbei um dem Zerfalle bestimmte Gebilde. Bei

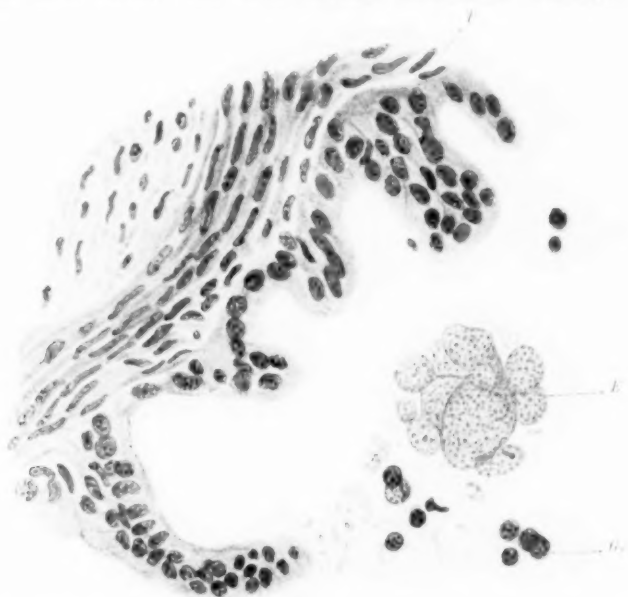


Abb. 26. Unregelmäßig geteiltes Tubenei. Teilstücke (L) in diesem Schnitte kernlos, in anderen Schnitten teilweise mehrkernig, 46 Stunden nach der Operation. Vorher Koitus mit sterilen Männchen. T Tubenwand; G Granulosazellen. Vergr. 300 f.

dem Objekte, in welchem wir die bizarren durch die Abb. 26 erläuterten geteilten Tubeneier fanden, waren auch die bereits beschriebenen degenerativ-parthenogenetischen Bildungen in atresierenden Follikeln vorhanden.

Ähnliche Beobachtungen sind nun bereits von anderen Autoren an Tuben- und Uteruseiern gemacht worden (Hensen, Bischoff u. a.). Bonnet will auch diese Erscheinungen aus dem Bereiche der Parthenogenese ausschalten und ist der Ansicht, daß in diesen Fällen nicht unbefruchtete Eier vorliegen, sondern daß es sich hierbei um Degenerationserscheinungen entweder unreifer und deshalb schlecht befruchteter oder um normale, aber durch geschwächte Spermien befruchtete

Eier handle. Für unsere Fälle können wir auf Grund unserer Versuchsanordnung einen Befruchtungsvorgang ausschalten und dürfen daher mit Recht die parthenogenetische Entstehung dieser Gebilde als gesicherte Tatsache hinstellen. —

Im abgeschnürten Teile des *Uterus*, dessen Wand durch die infolge der Flüssigkeitsansammlung bewirkte Ausdehnung des abgebundenen Stückes, durch das mechanische Trauma der Ligatur und durch die reaktive Entzündung in der Umgebung des Seidenfadens häufig abnorm beschaffen war, fanden sich nur in drei Fällen Eier vor, die aber ungeteilt waren. Im *Uterus* sah man eine geringe Menge einer im fixierten Präparat gewöhnlich feinflockig erscheinenden Substanz; er enthielt also eine Flüssigkeit, die anscheinend eiweißarm war. Häufig fanden sich teils in dieser Flüssigkeit, teils in der *Uterus*wand selbst zahlreiche eingewanderte Leukozyten.

Schlußfolgerungen.

Fassen wir unsere Versuchsergebnisse zusammen, so ergibt sich, daß wir im abgebundenen *Uterus* nur in einer verschwindend kleinen Anzahl von Fällen Eier vorfanden, die aber, ohne sich zu teilen, abgestorben waren. In der *Tube* fanden sich oft Eier, die aber gleichfalls zumeist abgestorben waren, in einigen Fällen sich jedoch geteilt hatten. Im *Periorarialraum* dagegen waren fast regelmäßig eigenartige Zellballen vorhanden, welche aus Eiern entstanden sind, die sich ohne eine vorausgegangene Befruchtung geteilt hatten. Das Ergebnis dieses Teilungsvorganges wich allerdings von jenem einer befruchteten Eizelle sehr wesentlich ab: Die Eizelle war in eine große Anzahl von Zellen zerfallen, die sich voneinander höchstens dadurch unterschieden, daß die oberflächlich gelegenen abgeplattet waren, während alle übrigen gleichartige große Epithelzellen darstellten. Im normalen Entwicklungsgange müßten Embryonalzellen von dieser Größe einem formal ganz bestimmten Entwicklungsstadium entsprechen, es müßte vor allem auch eine Sonderung der Keimblätter und des Trophoblasten ausgebildet sein. Bei unseren Objekten dagegen handelte es sich einfach um Gebilde, welche aus dicht aneinander liegenden Zellen von im Wesen gleicher Art bestehen. Man könnte jene von diesen Gebilden, welche kugelig sind, mit einer »Morula« vergleichen, nur mit dem Unterschiede, daß ihnen eine Furchungshöhle fehlt und daß die Zellen kleiner sind, als dies einer Morula entspricht, daß also bereits eine größere Anzahl von Teilungen, als es dem Morulastadium des normalen befruchteten Eies entspricht, vollendet wurde.

Mit normalen Entwicklungsstadien lassen sich also diese Gebilde nicht vergleichen, wohl aber beweisen sie, daß auch beim Säugetier eine, und zwar eine sehr weitgehende Teilung des unbefruchteten Eies

möglich ist. Das Resultat dieser Eiteilung war bei unseren Versuchen insofern ein negatives, als die hierdurch entstandenen Gebilde nach Erreichung einer gewissen, wenn auch ziemlich großen Zahl von Zellen, dem Absterben verfallen. Es bleibt aber fraglich, ob derartige unbefruchtete, sich teilende Säugetiereier stets zu diesem Schicksal verurteilt sind. Unter anderen Versuchs- oder natürlichen Bedingungen können sie sich vielleicht auch anders und weiter entwickeln, sei es zu normalen, sei es zu abnormen Bildungen. In letzterer Hinsicht wäre besonders an Teratome zu denken.

Von ganz besonderem Interesse ist das Verhalten dieser Gebilde zur Ovarialkapsel und zur Ovarialoberfläche. Hier ist eine Analogie mit dem befruchteten Ei unverkennbar. Wie dieses, so streben auch die von uns beschriebenen Gebilde in gleicher Weise nach einer *organischen Verbindung mit dem mütterlichen Gewebe*, welche ihnen die Möglichkeit zur Weiterentwicklung bietet. Wenn auch unsere Gebilde keinem befruchteten Ei entsprechen, so versuchen sie sich dennoch im mütterlichen Gewebe einzunisten wie das befruchtete Ei. In gewissem Sinne könnten also diese Versuche mit dem Vorgang bei einer *Extrauterin gravidität* verglichen werden, die hier auf experimentellem Wege erzielt wurde.

Was nun die *Ursache* betrifft, welche diese unbefruchteten Eier zur Teilung veranlaßte, so liegt sie wohl zweifellos in den chemischen Veränderungen der Umwelt, in welche die Eier durch die Abbindung des Geschlechtsstranges versetzt wurden. Die Flüssigkeit, in welcher sich die Eier infolge ihres erzwungenen Verharrens im Periovarialraum befanden, unterscheidet sich zweifellos von jener, in welcher sich die Eier unter normalen Verhältnissen entwickeln. Die physikalisch-chemischen Bedingungen waren demnach in der Umgebung dieser Eier ganz andere als in der Norm, und daher wurde auch ihr Schicksal ein anderes. Unbefruchtete Eier sterben normalerweise, ohne sich zu teilen, bald ab. In der künstlich geschaffenen Umwelt der von uns beschriebenen Eier dagegen mußten Faktoren enthalten sein, welche einerseits das Absterben dieser Eier verhinderten, anderseits auf diese Eizellen derart reizend einwirkten, daß diese sich wiederholt teilten. Es sind also durch das Verharren der Eier in der künstlich gestauten Periovarialflüssigkeit im Prinzip ähnliche Bedingungen geschaffen worden, wie sie bei den Versuchen über künstliche Parthenogenese von *J. Loeb* u. a. angewendet wurden. Allerdings kam es bei den Versuchen *Loeb's* zu einer Entwicklungsart, die im wesentlichen — von den Kernverhältnissen naturgemäß abgesehen — der normalen entspricht und die daher auch zur Bildung von normalen Entwicklungsstadien führte, während dies bei unseren Versuchen nicht der Fall war. Dieser Unterschied erklärt sich aber damit, daß

bei den Versuchen über künstliche Parthenogenese die verwendeten Reize nur in dem Maße und nur insoweit einwirkten, als dies zur Erregung der Eizelle notwendig war, worauf die Eizelle wieder unter normale Entwicklungsbedingungen versetzt wurde, unter welchen sie sich dann naturgemäß normal weiter entwickeln konnte. Bei unseren Versuchen dagegen mußten die Eier, nachdem sie zur Teilung angeregt worden waren, auch weiterhin unter abnormen Verhältnissen verbleiben, und sie konnten sich daher nicht anders als in abnormer Weise entwickeln. Wäre es, wie z. B. bei den Versuchen über künstliche Parthenogenese, möglich, auch die unbefruchteten Säugetiereier, nachdem man sie zur Teilung angeregt hat, unter normale Verhältnisse zu versetzen, dann würden sie sich vielleicht gleichfalls normal weiter entwickeln (von gewissen aus ihrer Kernbeschaffenheit gegenüber befruchteten Eiern sich ergebenden Verhältnissen abgesehen) und nicht bloß jene nicht weiter differenzierten Zellballen wie bei unseren Versuchen liefern. Die Vorstellung ferner, daß sich solche unbefruchtete Eizellen unter dem Einflusse abnormer Reize auch in abnormer Richtung entwickeln und so unter Umständen z. B. zu Teratomen werden können, ist gleichfalls statthaft.

Zellteilung ist bekanntlich nur mit Hilfe von *Zentrosomen* möglich. Die reife Eizelle besitzt kein oder wenigstens kein aktives Zentrosom mehr, es muß ihr vielmehr von der Samenzelle geliefert werden. Auch bei unseren unbefruchteten Eizellen mußten Zentrosomen tätig gewesen sein, da ja diese Eier sich teilten. Woher diese Zentrosomen stammen, läßt sich auf Grund unserer Präparate nicht angeben. Bei den Versuchen über künstliche Parthenogenese wurde bekanntlich behauptet, daß hier unter dem Einfluß der verwendeten Entwicklungsreize Zentrosomen in der Eizelle entstanden. Es bleibt fraglich, ob dies auch bei unseren Eiern der Fall ist, oder ob es sich hier um ein Erhaltenbleiben und Fortwirken der Zentrosomen der unreifen Eizelle handelt. Die Teilungsvorgänge müssen sich übrigens außerordentlich *rasch* abspielen. Denn wir fanden zwar Eier, die nur in wenige, und solche, die in sehr viele Zellen zerfallen waren, aber keine Zwischenformen zwischen diesen beiden Extremen. Sicher liegt dies zum Teile daran, daß unsere Versuche nicht zahlreich genug waren, so daß uns vielleicht gerade die Zwischenformen entgingen. Bei den relativ geringen Zeitspannen zwischen den einzelnen Versuchen hätten sich jedoch wenigstens in einigen Fällen Zwischenformen bei unseren Objekten vorfinden müssen, wenn diese Zellteilungen nicht außerordentlich rasch verlaufen wären. Wir müssen uns daher vorstellen, daß die Reize, welche bei unseren Versuchen einwirkten, eine geradezu stürmische Aufeinanderfolge von Zellteilungen verursachten.

Im Lichte der von uns künstlich bewirkten Entwicklungsvorgänge der unbefruchteten Eizelle lassen sich nun die bereits erwähnten in der Literatur niedergelegten, aber bisher unerklärlichen, gelegentlich gemachten Einzelbefunde von »fragmentierten« und »gefurchten« Eiern im Ovarium oder in der Tube bei Säugetieren von einem einheitlichen Standpunkte aus auffassen: Zwischen ihnen und den von uns künstlich bewirkten Gebilden besteht offensichtlich kein prinzipieller Unterschied. Wie andere Autoren, so konnten auch wir an den gleichen Stellen Eizellen beobachten, die nur in wenige Zellen geteilt waren, daneben aber auch solche, die in eine große Zahl von Zellen zerfallen waren. In allen diesen Fällen, sowohl bei den in der Natur entstandenen, zufällig gefundenen, sowie bei den von uns künstlich erzeugten Objekten handelte es sich nicht um einen Zerfall, um eine Fragmentierung, d. h. Bruchstückbildung, sondern um eine wirkliche Teilung von unbefruchteten Eizellen, also im gewissen Sinne um eine Weiterentwicklung von unbefruchteten Säugetiereizellen. Ob man dies eine Parthenogenese nennen will, hängt davon ab, in welchem Sinne man diese Bezeichnung auffaßt. Im strengen Sinne dieses Wortes handelt es sich hier gewiß nicht um eine Parthenogenese, wie schon Bonnet betonte. Wir vermögen ja u. a. gar nicht anzugeben, ob diese Eizellen den Reifungsprozeß vollendet oder auch nur begonnen haben, ob es sich also um eine Teilung reifer oder unreifer Eizellen handelt. Sicher ist nur nach unseren Ergebnissen, daß unbefruchtete Eizellen von Säugetieren einer Teilung fähig sind und daß sie, wie die Eier von Wirbellosen und von gewissen Wirbeltieren, in diesem Sinne zu einer »parthenogenetischen« Entwicklung veranlaßt werden können. Die Reize, welche diese Teilung unbefruchteter Eizellen verursachen, müssen nicht, wie bei unseren Versuchen, künstliche sein, sie können sich vielmehr gewiß auch im natürlichen Leben innerhalb des Säugetierorganismus ausbilden, wie jene zitierten Fälle beweisen, bei welchen solche geteilte Eier zufällig im Ovarium oder in der Tube eines Säugetieres gefunden wurden. In allen diesen Fällen aber handelte es sich um Eier, welche in nur wenige Zellen geteilt waren, nicht um Gebilde, welche aus so vielen Zellen bestanden wie die von uns beschriebenen. Im Naturleben werden also offenbar Reize anderer Art entwickelt, als es bei unseren Versuchen der Fall war, und darum besteht auch ein Unterschied zwischen den natürlichen und den künstlich entstandenen Bildungen. Wenn sich insbesondere die von uns künstlich im Periovarialraum erzeugten Bildungen zu vielzelligen Komplexen entwickelten, so liegt dies offenbar daran, daß ihnen in der gestauten Periovarialflüssigkeit Bedingungen geboten wurden, die für ein längeres Fortleben und für eine regere Zellteilung günstiger waren als jene, welche im Naturleben möglich sind.

Allein auch die durch unsere Versuchsanordnung geschaffenen Bedingungen genügten nur zu einer Anzahl von Teilungsschritten der unbefruchteten Eizellen, nicht auch zu ihrer Differenzierung in besondere Keimblattzellen und zu jener formativen Tätigkeit, wie sie zur normalen Entwicklung notwendig ist. Der eventuellen Annahme, daß der unbefruchteten Säugetiereizelle die Potenz zu dieser formativen Tätigkeit überhaupt fehlt, widerspricht der Ausfall der Versuche über künstliche Parthenogenese bei anderen, vom Säugetierei — wie unsere Versuche beweisen — gewiß nicht prinzipiell verschiedenen Eiarten. Wenn sich also unsere Eier, nachdem sie sich in zahlreiche Zellen geteilt hatten, nicht weiter entwickelten, sondern abstarben, so liegt dies sicherlich daran, daß die Versuchsbedingungen zu ihrer weiteren Entwicklung nicht günstig genug waren, und nicht daran, daß diesen Eiern die Fähigkeit zur Weiterentwicklung überhaupt fehlt.

Der *Absterbevorgang* beginnt, wie wir sahen, im Zentrum der Zellballen, denn hier gehen die Zellen zuerst zugrunde und bilden einen Detritus, der die Mitte der älteren Zellballen regelmäßig einnimmt. Es liegt nahe, sich vorzustellen, daß gerade diese in das Zentrum der Zellballen geratenen Zellen unter weit ungünstigeren Ernährungsbedingungen stehen, als die mehr oberflächlich gelegenen Zellen, welche ihre Nährmittel weit leichter aus der sie umgebenden Flüssigkeit beziehen können als die zentral gelegenen Zellen.

Bemerkungen über den Transport der Eier durch die Tube in den Uterus.

Schrieb man früher den Transport der Eier aus den geborstenen Follikeln in die Tube und aus dieser in den Uterus der Flimmerbewegung der Tubenepithelien zu, so mehren sich in neuerer Zeit Stimmen, welche dem Flimmerstrom nur einen untergeordneten, den Kontraktionen der Tubenmuskulatur dagegen den Hauptanteil an der Fortbewegung der Eier zusprechen. *Sobotta* und *Powierza* fanden bei der Maus, *Sobotta-Burckhard*, sowie *A. Fischel* bei *Mus decumanus* eine periodische Erweiterung der geschlossenen Ovarialkapsel durch Zunahme der im Periovarialraum befindlichen Flüssigkeit. Der Höhepunkt der Flüssigkeitsansammlung fällt mit der Follikelberstung zusammen. Nach den Untersuchungen *Fischels* befindet sich nun ein starker Muskelzug in dem unmittelbar mit der Ovarialkapsel zusammenhängenden Mesenterium der Tube, dessen Kontraktionen eine Annäherung der Tube und der Ovarialkapsel hervorrufen und den Druck in der Ovarialkapsel steigern müssen. Die unter stärkeren Druck gesetzte Flüssigkeit des Periovarialraums muß unter diesen Verhältnissen nach dem einzigen Abflußkanal, nach der Tube, ausweichen. Ein zweiter starker Muskelzug, der *musc. infundibuli tubae Fischels*, verhindert, daß das

freie in die Ovarialkapsel hineinragende Fimbrienende der Tube durch den erhöhten Druck ventilartig zusammengepreßt werden kann. Durch diesen Muskelzug kann das Tubenostium offen erhalten werden. Bei zweckmäßig kombinierter Zusammenarbeit dieser Muskeln muß demnach der Inhalt der Ovarialkapsel in die Tube hineingetrieben werden. Damit stimmt eine Beobachtung *Sobottas* überein, bei welcher sich bei der Maus Eier in einer erweiterten, mit Flüssigkeit gefüllten Tubenschlinge vorfanden. *Sobotta* erklärt sich dieses Bild durch eine Art aktiver Dilation der Tube und eine dadurch bedingte *Ansaugung* des Inhaltes der Ovarialkapsel.

Daß ein ähnlicher Vorgang beim Menschen vorkommen dürfte, erscheint nach der Beobachtung, daß auch bei der Frau ein periodisch wechselnder mäßiger Flüssigkeitserguß in die Beckenhöhle beobachtet wird, wahrscheinlich (*Novak*). Auch hier dürfte es also zur Zeit der Follikelberstung zur Bildung eines Flüssigkeitsergusses in die Beckenhöhle kommen, der die Ansaugung der ausgestoßenen Eier in die Tube erleichtert.

Für die *Weiterbeförderung* der Eier in die Tube sorgt wahrscheinlich ebenfalls, wie schon *Fischel* hervorhob, in erster Reihe die Peristaltik der Tubenmuskulatur. Dafür spricht auch der Umstand, daß das Flimmerepithel bei manchen Tieren, wie bei der Maus (*Schaffer*), im isthmischen Teil der Tube fehlt. Es ist möglich, daß die Hauptaufgabe des Flimmerepithels nicht darin liegt, das Ei fortzubewegen, sondern die das Ei umgebende Flüssigkeit in einem steten Wechsel zu erhalten und dadurch das Ei mit stets neuem Nährmaterial zu versorgen.

Unsere Befunde sind zwar nicht imstande, die angeführten Fragen zu lösen, wohl aber stellen sie eine Vermehrung des Beobachtungsmaterials dar.

Die auffallende Tatsache, daß nicht alle Eier an derselben Stelle liegen, sondern teils im Periovarialraum in Form der von uns beschriebenen eigenartigen Gebilde, teils in den Tubenschlingen zur Beobachtung gelangen, scheint darauf hinzuweisen, daß der Follikelsprung nicht in allen Follikeln gleichzeitig stattfindet — wenn auch wahrscheinlich in kurzen Zwischenzeiten.

Für die aufgeworfenen Fragen ist es nun von Bedeutung, daß wir niemals eine Mischung des geformten Inhaltes der Ovarialkapsel und der Tube beobachten konnten. Nie fanden sich die im Periovarialraum vorgefundenen gefurchten Eier oder deren Zerfallsprodukte in der Tube. Wir müssen daher annehmen, daß nach der Operation kein weiterer Transport von geformten Elementen aus dem Periovarialraum in die Tube stattfand, obwohl diese sowohl am abdominalen, wie auch am uterinen Ende offen war, und obwohl ihr Flimmer-

epithel durch die Operation selbst ungeschädigt blieb. Freilich konnte die Funktion des Flimmerepithels dadurch beeinträchtigt sein, daß der Flüssigkeitsstrom durch die Abbindung unterbrochen war, aber es wäre immerhin denkbar, daß durch diese Flimmerbewegung Wirbel in der stagnierenden Flüssigkeitssäule entstehen könnten, welche die in dieser Flüssigkeit schwebenden körperlichen Gebilde durcheinander mischen. Jedenfalls reichte die Kraft des Flimmerstroms zur Erzeugung solcher energischer Wirbelbewegungen in der langen, geschlängelten Flüssigkeitssäule nicht aus, denn sonst wäre die Lokalisation der Zellballen nicht auf den Periovarialraum beschränkt geblieben.

Ob die Ligatur auch den muskulären Mechanismus lähmt, so daß der ganze Inhalt des abgetrennten Genitalschlauches in dem vor der Operation befindlichen Zustand verharret, oder ob die Tube überhaupt nur periodisch in entsprechender Anpassung an die Sexualtätigkeit — z. B. synchron mit der Ausstoßung der Eizellen aus den Follikeln — arbeitet, läßt sich aus unseren Befunden nicht erschließen. Die Beobachtung, daß in der Regel auf der nicht unterbundenen Seite keine Eier, aber Granulosazellen im Periovarialraum gefunden wurden, spricht für die erstere Annahme, nämlich für eine hemmende Einwirkung der Ligatur auf die Tubenperistaltik. Andererseits zeigt die Tubenmuskulatur ein von der anderen glatten Muskulatur abweichendes Verhalten. Während wir gelegentlich von Operationen durch mechanischen Reiz am Ureter, Darm und auch am Uterus Kontraktionen hervorrufen können, gelingt dies bei der Tube nicht. Dieses eigenartige Verhalten legt die Notwendigkeit einer genaueren experimentellen Prüfung der Reizbarkeit und Kontraktionsfähigkeit der Tubenmuskulatur nahe, von welcher wir eine weitere Einsicht in die Physiologie der Tubenfunktion erwarten.

Literatur.

1. *Bischoff*, Sur la maturation et la chute périodique de l'œuf de l'homme et des mammifères, indépendamment de la fécondation. Ann. des sciences natur. III. Sér. T. I, II. Paris 1844, zit. nach *Bonnet*. — 2. *R. Bonnet*, Gibt es bei Wirbeltieren Parthenogenese? Ergebn. d. Anat. u. Entwicklungsgesch. 1899. Bd. IX. — 3. *A. Fischel*, Zur normalen Anatomie und Physiologie der weiblichen Geschlechtsorgane von *Mus decumanus* usw. Arch. f. Entw.-Mech. 1914. Bd. 39. — 4. *W. Flemming*, Über die Bildung von Richtungsfiguren in Säugtiereiern beim Untergang Graafscher Follikel. Arch. f. Anat. u. Phys. Anat. Abt. 1885, 1897. — 5. *L. Fränkel*, Experimente zur Herbeiführung der Unwegbarkeit der Eileiter. Arch. f. Gyn. 1899. Bd. 58. — 6. *G. Häggström*, Über degenerative »parthenogenetische« Teilungen von Eizellen in normalen Ovarien des Menschen. Acta Gynecologica Scandinavica. 1922. Vol. I. Fasc. 2. — 7. *Henneguy*, Sur la fragmentation parthénogénésique des ovules des Mammifères pendant l'atrésie des follicules de Graaf. Comptes rendus de la Soc. de biol. 1893. T. V. — 8. *Hensen*, Über die Züchtung unbefruchteter Eier. Zen-

- tralbl. f. d. med. Wiss. Jahrg. 7. 1869. — 9. *P. Hertwig*, Haploide und diploide Parthenogenese. *Biolog. Zentralbl.* 1920. Bd. 40. — 10. *J. Janosik*, Die Atrophie der Follikel und ein seltsames Verhalten der Eizelle. *Arch. f. mikr. Anat.* 1897. Bd. 48. S. 169. — 11. *Klebs*, Über die frei in der Bauchhöhle von Hasen und Kaninchen vorkommenden Eisäcke. *Virch. Arch.* 1865. Bd. 33. — 12. *J. Loeb*, Die künstliche Parthenogenese. *Handbuch d. Biochemie.* Bd. 2, 1. Hälfte (Biochemie der Zelle). Jena, Fischer, 1910. — 13. *Mandl u. Schmitz*, Beiträge zur Ätiologie und pathologischen Anatomie der Eileiterschwangerschaften. *Arch. f. Gyn.* 1898. Bd. 56. S. 401. — 14. *J. Novak*, Über Ursache und Bedeutung des physiologischen Ascites beim Weibe. *Zentralbl. f. Gyn.* 1922. Nr. 21. — 15. *Powierza*, Über Änderungen im Baue der Ausführungswege des weiblichen Geschlechtsapparates der Maus usw. *Extr. Bull. de l'Acad. d. sc. de Cracovie. Cl. d. sc. math. et natur.* 1912. — 16. *H. Rabl*, Zur Kenntnis der Richtungsspindeln in degenerierenden Säugetiereiern. *Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wissensch. zu Wien, math.-nat. Kl.* Bd. 106. Abt. III. — 17. *Ders.*, Mehrkernige Eizellen und mehrreife Follikel. *Arch. f. mikrosk. Anat.* Bd. 54. — 18. *Reinhardt*, Die abnormen Trächtigkeiten. *Harms' Lehrbuch der tierärztlichen Geburtshilfe.* 4. Aufl. II. Teil. S. 51—60. — 19. *J. Schaffer*, Über Bau und Funktion des Eileiterepithels beim Menschen und bei Säugetieren. *Monatschr. f. Geb. u. Gyn.* Bd. 28. — 20. *Schottländer*, Über den Graafschen Follikel. *Arch. f. mikr. Anat.* 1893. Bd. 41. — 21. *Sittner*, Bauchschwangerschaft beim Kaninchen. *Arch. f. Gyn.* Bd. 69. — 22. *J. Sobotta und Burckhard*, Reifung und Befruchtung des Eies der weißen Ratte. *Anat. Hefte.* 1910. Bd. 42. S. 435. — 23. *Spuler*, Über die Teilungserscheinungen der Eizelle in degenerierenden Follikeln des Sängerovariums. *Anat. Hefte.* Abt. 1. 1901. — 24. *Stoeckel*, Über Teilungsvorgänge in Primordialeiern bei einer Erwachsenen. *Arch. f. mikr. Anat.* Bd. 53. — 25. *Van der Stricht*, La structure de l'œuf des Mammifères (chauve-souris). 3^e partie. L'ovocyte à la fin du stade d'accroissement, au stade de la maturation, au stade de la fécondation et au début de la segmentation. *Bruxelles* 1909. *Acad. Belgique.* — 26. *Tainturier*, Thèse de Paris, G. Steinheil, 1895. *Ref. Zentralbl. f. Gyn.* 1895. Nr. 31. S. 855. — 27. *W. Waldeyer*, *Zeitschr. f. Geb. u. Gyn.* 1893. Bd. 27. S. 177, u. 1894. Bd. 30. S. 282. — 28. *Werth*, Die Extrauterinschwangerschaft. *v. Winckels Handb. d. Geburtshilfe.* Bd. II. 2. Teil. — 29. *B. Wolff*, *Zeitschr. f. Geb. u. Gyn.* 1919. Bd. 81, und *Studien zur Pathologie der Entwicklung.* 1914. Bd. 2. 1. Heft. S. 157—161. — 30. *E. Zuckerkandl*, Zur vergleichenden Anatomie der Ovarialtaschen. *Anat. Hefte* 1897. Bd. 8. S. 707.

Über Vitalfärbung, sowie hormonale und überhaupt humorale Beeinflussung des wachsenden Vogelembryos im Ei.

Von

J. Aug. Hammar,

Upsala.

Mit 2 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. August 1922.)

Daß nicht alle angeborenen Eigenschaften als ererbt zu erachten sind, sondern daß diesbezüglich auch mit dem Einfluß des intrauterinen Milieus zu rechnen ist, ist keineswegs ein Gedanke der jüngsten Zeit. Erst mit der Entwicklung der Hormonlehre wurde aber ein Einblick in die Wirkungsweise des normalen intrauterinen Milieus ermöglicht. Dadurch wurde auch die Frage aktualisiert, was bei der normalen Fötalentwicklung von der Erbllichkeit, was von dem hormonalen Einflusse determiniert wird. Und man kann wohl sagen, daß diese Frage nicht bloß in theoretischer Hinsicht eine der wichtigsten und interessantesten von den vielen ist, welche im Gebiete der Endokrinologie auf ihre Lösung harren. Angesichts der Möglichkeit, die hormonalen Einflüsse in einer weit leichteren Weise als die rein erblichen zielbewußt zu beeinflussen, kann die Sache auch eine hervorragende praktische Bedeutung beanspruchen.

Hierzu kommt nun ferner, daß schon vorliegende Daten dazu nötigen, die Frage zu stellen, ob nicht Hormoneinflüsse erblich begründete Eigenschaften zu modifizieren vermögen, und wenn dies der Fall ist, innerhalb welcher Grenzen.

In letzterer Beziehung von Bedeutung sind die von Lillie (1917) klargestellten anatomischen Verhältnisse beim Entstehen des intersexuellen Individuums, das bei der Geburt geschlechtsverschiedener Zwillinge beim Rind fast regelmäßig neben einem normalen männlichen Individuum vorhanden ist. Der erwähnte Forscher hat ja betreffs dieser Mißbildungen dargelegt, daß ihr Vorkommen enge an das Vorhandensein einer Anastomose zwischen den Nabelgefäßen der beiden Föten geknüpft ist. Diese Anastomose fehlt beim Kalbe nur ausnahmsweise, und dann ist auch der weibliche Zwilling nicht intersexuell, sondern normal. Das Fehlen der Anastomose ist aber bei solchen Zwillingsgeburten des Schafes die Regel, und hier fehlen auch die intersexuellen Formen. Plausibel erscheint unter diesen Verhältnissen der Erklärungsversuch Lillies. Wenn die Anastomose vorhanden ist, soll das männliche Sexualhormon als das zuerst gebildete zu dem

weiblichen Zwillings übergeleitet werden; hier ruft es, je nach dem Zeitpunkt dieses Ereignisses, die mehr oder weniger tiefgreifenden Umgestaltungen des Geschlechtsapparats in männlicher Richtung hervor, welche die betreffenden intersexuellen Individuen auszeichnen. Ist dies aber tatsächlich der Fall, so liegt es nahe, zu vermuten, wie es auch *Goldschmidt* (1917) schon ausgesprochen hat, daß ebenso wie die Geschlechtsdifferenzierung auch andere durch die Befruchtung hervorgerufene Eigenschaften während ihrer Entfaltung einem hormonalen Einfluß zugänglich sein können.

Unter solchen Umständen wird es besonders auffällig, wie äußerst mangelhaft schon unsere anatomischen Kenntnisse des innersekretorischen Apparates sowohl des Fötus wie des schwangeren Weibes vorläufig sind. Auf diesem Forschungsgebiet, das ja doch keineswegs als unzugänglich zu erachten ist, stehen uns zurzeit eigentlich nur mehr vereinzelte Beobachtungen zur Verfügung; eine systematische Übersicht fehlt fast gänzlich. Aber so wichtig solche anatomische Beobachtungen als Grundlage unseres Wissens auch sind, sie vermögen niemals sichere Kenntnisse zu geben in den schwierigen Fragen von den Beziehungen der fötalen und der maternellen Hormone bei der normalen Entwicklung und von dem Einfluß, welchen hormonale Störungen der einen oder der anderen Art auf den Entwicklungsvorgang ausüben. Solchen Anforderungen kann nur das Experiment genügen.

Als Objekt solcher Experimente scheint das Vogelei mehrere Vorteile darzubieten. Bei einem mit dem des Säugers in vielen Punkten vergleichbaren Entwicklungsverlaufe ist das Vogelei nicht nur experimentellen Eingriffen weit leichter zugänglich als das im Uterus sich entwickelnde Säugerei; auch das Medium, in welchem sich der Dotter des Vogeleies während der Entwicklung des Fötus befindet, das Eiklar, stellt durch seine normalerweise konstantere Beschaffenheit einen günstigeren, leichter zu beurteilenden Faktor dar als die komplizierter gestaltete, allerlei unberechenbaren Einflüssen ausgesetzte Umwelt, welche der mütterliche Organismus für das Ei des viviparen Säugers darstellt.

Bekanntlich wird nun das Eiklar im Laufe der Entwicklung vom Fötus in Anspruch genommen und resorbiert. Es bietet sich hierdurch die Möglichkeit dar, durch Einverleibung des einen oder anderen Stoffes mit dem Eiklar den Einfluß des betreffenden Stoffes auf den wachsenden embryonalen Organismus zu prüfen. Unter solchen Stoffen, deren Prüfung besonders verheißend erscheint, stehen dem oben Angeführten gemäß innersekretorische Produkte verschiedener Art in der ersten Linie.

Zweck dieser Zeilen ist es zu zeigen, wie früh in der Entwicklung mit der Möglichkeit einer derartigen Beeinflussung zu rechnen ist, und wie solche Versuche in Einzelheiten gestaltet werden können.

Vitalfärbungen.

Beim Herantreten an die gestellte Aufgabe erschien es zunächst angezeigt, auszuprobieren, ob überhaupt eine Beimischung fremder Bestandteile zu dem Eiklar ohne Absterben des Eies vorgenommen werden kann, und wann deren Aufnahme durch den Dotter eventuell beginnt. Hier schien eine Verwendung vital färbender Stoffe, die anerkannterweise für das Protoplasma relativ mehr oder weniger unschädlich sind, als angemessen. Läßt sich doch bei solchen Stoffen ihr Vorhandensein und ihre Verteilung im Embryo direkt am lebenden bzw. überlebenden Objekt feststellen. Die von mir angestellten Versuche dienten eigentlich auch nur einem solchen orientierenden Zweck. Da sie aber auch an und für sich aussichtsreiche Resultate ergaben, scheint es nicht unnütz, mit einigen Worten etwas näher auf sie einzugehen.

Geprüft wurden folgende Farbstoffe: Neutralrot, Brillantkresylblau, Methylenblau rectif., Gentianaviolett, Alizarin, Janusgrün, Trypanblau und Pyrrolblau. Unter diesen ergaben nur die drei erstgenannten ein positives Resultat; die übrigen schienen eine so starke Schädigung des Dotters herbeizuführen, daß eine Entwicklung in keinem Falle erfolgte, wo die Farbe denselben erreicht hatte. Das Neutralrot erwies sich im Eiklar bei Zimmertemperatur als nicht besonders stark löslich. Wenn die Farbe in ungelöster Form zugeführt wurde, erfolgte aber die Lösung im Brutofen, so daß meistens schon nach eintägiger Bebrütung eine ziemlich kräftige gelblichrote Färbung des Eiklars zu erkennen war. Das Brillantkresylblau und das Methylenblau hingegen waren schon bei Zimmertemperatur leicht löslich.

Die Zuführung des Farbstoffes geschah versuchsshalber auf verschiedene Weise. Einerseits wurde am spitzen Eipole nach Anbohrung mit einem scharfgeschliffenen, in die Drehbank eingesetzten Stahlrohre eine Kalotte von etwa 1 cm Durchmesser abgehoben und durch das so entstandene Loch der Farbstoff zugeführt. Andererseits wurde durch ein solches Loch mit einer sterilen Spritze Eiklar in einer Menge von 2—4 cm aufgesogen, mit dem Farbstoff zu einer intimen Mischung verrieben und dann wieder eingespritzt, eventuell unter Hinzufügung von so viel einem anderen Ei entnommenen Eiklar, daß der Raum innerhalb der Eischale gänzlich ausgefüllt wurde. Da es sich herausstellte, daß die Verteilung des in ungelöstem Zustande zugeführten Farbstoffes innerhalb des Eiklars, wenigstens während der ersten Bebrütungstage nicht selten eine ungenügende war, trotzdem daß das Ei alltäglich umgedreht wurde, kam auch — und zwar vom Methylenblau und vom Gentianaviolett — eine gesättigte Lösung des Farbstoffes in 0,9 % Kochsalzlösung zur Verwendung. Dieselbe wurde

durch mehrere (4—8) symmetrisch am Äquator des Eies angebrachte punktförmige Löcher eingespritzt, wobei durch andere ähnliche Löcher für den Abfluß eines etwa gleichgroßen Quantum des Eiklars gesorgt war und durch ein punktförmiges Loch am stumpfen Pol bis in die Luftkammer hinein die Möglichkeit eines Entweichens von Luft berücksichtigt wurde. Der Zweck dieses letzterwähnten Verfahrens, nämlich eine gleichmäßigere und schnellere Verteilung der Farbe im Eiklar wurde auch erreicht. Leider waren die derart behandelten Eier offenbar an und für sich wenig entwicklungsfähig, so daß ich von dem sonstigen Erfolg dieses Verfahrens nichts Sicheres mitzuteilen habe.

Die Eischale mag nun auf die eine oder andere Weise geöffnet gewesen sein: Der Verschuß erfolgte durch Überdeckung mit einem kleinen Stück Schalenhaut, die durch Eiklar angeklebt, angetrocknet und nach dem Trocknen durch zweimaliges Überstreichen mit Kollodium lackiert wurde. War eine Kalotte in der oben angegebenen Weise abgehoben worden, so wurde nach ihrem Wiederaufklappen als Deckel der Trennungsrand dermaßen behandelt. Die Bohrlöcher wiederum wurden vor dem Kollodiumanstrich außerhalb der Schalenhaut mit einem Stückchen der Kalkschale überdeckt¹⁾.

Färbung des Keimes wurde wiederholt, und zwar schon bei einem Entwicklungsgrad desselben beobachtet, der einer etwa 48 stündigen Bebrütung unter normalen Verhältnissen entspricht. Tatsächlich handelte es sich um eine etwas längere Frist, indem die behandelten Eier fast immer eine — durchschnittlich etwa 24 stündige — Verspätung in der Entwicklung aufwiesen.

Was die Ergebnisse der Färbung im übrigen anbetrifft, so verhielten sich das Neutralrot und das Brillantkresylblau so ähnlich, daß zu vermuten war, daß es in beiden Fällen dieselben Gebilde waren, die sich färbten — mit jener Farbe gelblichrot, mit dieser metachromatisch rotviolett bis purpurn. Die gefärbte Substanz hatte den Charakter von Körnchen, die den von mir (1912) des näheren untersuchten, mit denselben Vitalfärbungen darstellbaren »Purpurlipoidkörnchen« der weißen Blutkörperchen so ähnlich waren, daß die Vermutung nahe lag, daß es sich auch hier um gleichartige Gebilde handelt; dies bestimmt zu behaupten ist aber ohne eingehendere Untersuchungen nicht möglich.

Innerhalb des Embryos habe ich diese Gebilde besonders reichlich in gewissen Gebieten des Ektoderms, so z. B. in den Zellen am Boden der Linsengrube angetroffen. Auch das extraembryonale Ektoderm ist, wenigstens am zweiten Entwicklungstage, durch ähnliche Körnchen

¹⁾ Ich finde, daß eine ähnliche, nahe an der Hand liegende Verschußweise früher von Miß *Peebles* (1898) und *Lillie* (1903) gebraucht worden ist.

ausgezeichnet. Am reichlichsten und konstantesten finden sich aber derartige gefärbte Elemente im Gefäßhof, entlang der hier verlaufenden Gefäße, so daß die ganze Gefäßverästelung durch eine schöne rote Umsäumung der einzelnen Gefäße scharf hervorgehoben wird. Es ist ein sehr ansprechendes Schauspiel, innerhalb des derart schön rotgefärbten Embryos und Gefäßhofs den Herzschlag und den Blutkreislauf unter Umständen mit normaler, allem Anschein nach von der Färbung gar nicht geschwächter Energie vor sich gehen zu sehen.

Auch im Nahrungsdotter treten unter günstigen Vorbedingungen in betreff der Farbkonzentration der nächsten Umgebung des Dotters ähnliche gefärbte Körnchen hervor. Selten ist aber hier mehr als eine dünne Oberflächenschicht an der Färbung beteiligt. Die betreffenden Granula des Nahrungsdotters sind ganz klein und liegen zwischen den großen Dotterkörnchen, welche letztere meistens ganz ungefärbt angetroffen wurden.

Die Methylenblaufärbung läßt gleichfalls intrazelluläre Körnchen hervortreten, die aber blau, nicht metachromatisch gefärbt sind. Es handelt sich hier um weit kleinere Gebilde als die oben beschriebenen, und allem Anschein nach sind sie mit jenen nicht identisch. Eine allgemeinere, etwas übersichtlichere Färbung lag in keinem meiner Fälle vor, sondern es handelte sich um verschiedene größere oder kleinere Zellkomplexe in einer sonst ungefärbten Umgebung. Im Absterben begriffene Zellengruppen, welche durch chromatolytische Veränderungen der Zellkerne gekennzeichnet sind, trifft man mit etwa ähnlicher Verteilung im Gewebe solcher Embryonen, die in der Entwicklung zurückgeblieben sind, nach Paraffineinbettung und gewöhnlicher Kernfärbung an; ob die beiden Arten von Bildern wirklich zueinander Beziehung haben, muß vorläufig unentschieden bleiben.

Mehr als eine erste Orientierung über die Verwendbarkeit der Vitalfärbung des wachsenden Vogelembryos im Ei geben die vorstehenden Daten offenbar nicht. So viel läßt sich jedoch schon jetzt aussagen, daß wir in einer derartigen Verwendung der Vitalfärbung ein Mittel besitzen, bauliche Einzelheiten, die sonst wenig oder gar nicht sichtbar sind, mit größter Deutlichkeit hervortreten zu lassen. Gewisse stoffliche Umsetzungen und Verschiebungen innerhalb des sich entwickelnden Eies dürften nur auf diese Weise dem Untersucher zugänglich gemacht werden können.

Hormonzufuhr.

Die durch die Vitalfärbungsversuche gewonnene Erfahrung ergab, daß eine Entwicklung des Keimes auch nach Einverleibung fremder Stoffe mit dem Eiklar erfolgen kann, und daß solche Stoffe schon bei einem Entwicklungsgrad des Embryos, der dem zweiten Tag des

normalen Entwicklungsverlaufes entspricht, Aufnahme in den Embryo gefunden haben können. Insofern scheinen also die nötigen Vorbedingungen für Hormonversuche ähnlicher Art vorzuliegen.

Die für meine diesbezüglichen Versuche herangezogenen Organpräparate waren: 1. »Tabloid Thyroid Gland« (Burroughs Wellcome & Co.), jede Tablette angeblich 0,1 g der frischen, gesunden Schilddrüse vom Schaf entsprechend und nicht weniger als 0,05% Jod in organischer Bindung enthaltend; 2. Hypophysin (Meister Lucius und Brüning), angeblich die wirksamen Substanzen von 200 g frischem Infundibularteil in 1 Liter Wasser enthaltend; 3. Pituitrin (Parke, Davis & Co., London); 4. Antuitrin, Extrakt des Vorderlappens der Hypophyse, von derselben Firma wie 3.

Die Schilddrüsen-tabletten wogen je etwa 0,08 g; sie wurden fein pulverisiert und in verschiedenen Dosen von 0,0025—0,160 g verwendet. Das Pulver wurde in solchen Dosen durch Verreibung mit einer kleinen Quantität (1—4 ccm) Eiklar vermischt und dann teils als Suspension, teils nach eintägiger Digerierung im Brutofen und Abfiltrierung des Ungelösten eingespritzt.

Von den übrigen, in steriler Lösung vorliegenden Präparaten wurden hauptsächlich zwei Dosierungen benutzt, nämlich 0,4 und 0,2 ccm der käuflichen Lösungen.

Die Schilddrüsenstoffe wurden versuchsweise in derselben Weise zugeführt, als dies für die Farbstoffe oben angegeben wurde: also einerseits nach Abhebung von einer Kalotte am spitzen Eipole und nachherigem Wiederauflegen derselben mit Dichtung des Schnittandes durch angeklebte Schalenhaut und zweimaligen Kollodiumanstrich; andererseits unter Benutzung punktförmiger Bohrlöcher.

Der ersterwähnte Eingriff ist offenbar von ziemlich tiefgreifender Natur. Es läßt sich die Beimengung von Luft zum Eiklar nur schwer vermeiden, was offenbar die Entwicklungsfähigkeit des Eies schädigt. Zwar erwies sich der Einhalt gegen Infektion durch Mikroorganismen auffallend refraktär, so daß ich nur zweimal unter den 200—300 behandelten Eiern eine offenkundige Verfaulung antraf; ob diese durch den Eingriff oder nur durch allzu langes Aufbewahren der Eier seitens des Verkäufers verursacht worden war, muß unentschieden bleiben. Die Beimengung von Luft gibt sich aber in einer allzu frühen und allzu starken Verflüssigung des Dotters kund. In Eiern, deren Eiklar durch Luft etwas stärker verunreinigt war, fand sich häufig schon nach eintägiger Bebrütung ein Dotter, der in seinem größten Umfange verflüssigt war und weißlich aussah. In solchen Eiern blieb die Embryonalentwicklung meistens gänzlich aus.

Das punktförmige Anbohren der Eischale mit Einspritzung durch die Bohrlöcher und nachheriger Dichtung derselben erwies sich als

ein weit unschädlicherer Eingriff. Das Anbringen von multiplen Bohröffnungen erwies sich ferner als unnötig. Eine Injektionsöffnung und eine Kontrapunktion für das Abfließen von Eiklar schienen dem Zweck zu genügen.

Es gestaltete sich demnach das Verfahren, zu welchem meine Versuche mich führten, und welches ich als brauchbar empfehlen kann, folgendermaßen:

1. Mit einem in die Drehbank eingesetztem Bohreisen wird die Eischale an zwei Stellen punktförmig angebohrt, nämlich einerseits am spitzen Pole, andererseits an einer Stelle des Äquators. Es empfiehlt sich, die Anbohrung zu hemmen, ehe sie zum Durchbruch geführt hat, so daß bloß eine beträchtliche Verdünnung der Schale bewirkt wird. Dies erreicht man am leichtesten, wenn das Bohreisen nicht in eine langausgezogene, geschliffene Spitze ausläuft, sondern in Form einer stumpfwinkligen, niedrig kegelförmigen, aber nichtsdestoweniger scharfen Spitze abgestutzt ist.

2. Die angebohrten Stellen werden der Sterilisierung halber mit Spiritus abgerieben und trocknen gelassen.

3. Mit einer sterilen Glasnadel wird die äquatoriale Bohrstelle durchstoßen, und zwar so tief, daß die Schalenhaut mit Sicherheit auch perforiert wird. Um eine Beschädigung des Dotters zu vermeiden, wird darauf geachtet, daß eine Zeitlang vor dem Einstich weder die eine noch die andere Bohrstelle nach oben gekehrt gewesen ist.

4. Mit einer grobkalibrigen, quer abgeschliffenen, sterilen Hohl-
nadel einer Pravazschen Spritze wird die am spitzen Pole befindliche Bohrstelle durchstoßen. Die Nadel wird ziemlich tief eingeführt, aber in schiefer Richtung, damit sie nicht auf den Dotter stößt. Die Stellung der Nadelspitze kann durch eine vorsichtige, rotierende Bewegung während der Entleerung der Spritze verändert werden, wenn eine Verteilung der eingespritzten Substanz erwünscht ist. Die Spritze ist vor dem Benutzen durch Auskochen zu sterilisieren.

Das äquatoriale Loch wird während der Injektion nach abwärts gekehrt. Ist die betreffende Bohrstelle gut durchstoßen, fließt dann aus derselben eine Portion von Eiklar ab, welche der eingespritzten Flüssigkeitsmenge ungefähr entspricht. Wie unten des Näheren ausgeführt werden soll, ist dieses Moment von Bedeutung, da der Verdacht vorliegt, daß eine Erhöhung des Innendrucks des Eies einen teratogenen Faktor darstellt.

Beim Abfließen des Eiklars wird darauf geachtet, daß die Außenfläche der Eischale nicht in größerem Umfange von demselben verunreinigt wird. Ausgetretenes Eiklar wird sogleich sorgfältig abgetupft, bzw. mit einem in steriles Wasser getauchten Wattebausch fortgewaschen, damit es nicht eintrockne und eine Art Firnis auf der Schale bilde, was bekanntlich Mißbildungen hervorrufen kann.

5. Sogleich nach der Injektion werden die Löcher der Eischale plombiert. Es kommt über jedes Loch zunächst ein mit Eiklar befeuchtetes Stückchen Schalenhaut von etwa 2–3 mm Durchmesser und darüber ein etwa gleichgroßes Stückchen der Kalkschale. Sind beide angetrocknet, so werden sie sowie ihre nächste Umgebung mit Kollodium überstrichen; nach dem Eintrocknen wird der Anstrich nochmals erneuert. In anderen Fällen habe ich die Kollodiumanstriche durch einen Tropfen geschmolzenen Paraffins von hohem Schmelzpunkt (60° C) mit Vorteil ersetzt. In dem einen wie in dem anderen Fall wird darauf geachtet, daß nur eine kleine Plombe angefertigt wird, so daß die Permeabilität der Eischale durch sie keine wesentliche Beeinträchtigung erfährt.

6. Um zu vermeiden, daß die äquatoriale Punktionsstelle bei der Bebrütung unmittelbar oberhalb der Keimscheibe zu liegen komme, und um die planmäßige Wendung der Eier während der Bebrütung zu erleichtern, habe ich das Ei am Äquator in einer Entfernung von 90° von der äquatorialen Stichöffnung mit blauem, und gerade gegenüber mit rotem Farbstift numeriert und dann stets darauf geachtet, daß das Ei im Brutofen mit der einen oder anderen Ziffer gerade nach oben zu liegen kommt.

Dieses Verfahren habe ich nun an einem Material von 100 Hühneriern geprüft. Die Bebrütung geschah in einem Brutapparat von der vorzüglichen Konstruktion der Rosehill-Fabrik in Norrköping. Von den Eiern, die sämtlich auf einmal zur Bebrütung kamen, wurden 60 Stück mit Hypophysensubstanzen injiziert, 40 zur Kontrolle verschiedentlich behandelt. Von jenen wurden 10 Stück mit Hypophysin 0.4 cem, 10 Stück mit Hypophysin 0.2 cem der käuflichen Lösung gespritzt. Mit Pituitrin 0.4 bzw. 0.2 cem gleichfalls je 10 Stück und mit Antuitrin 0.4 bzw. 0.2 cem gleichfalls je 10 Stück injiziert. Von den Kontrolleiern wurden 10 Stück mit 0.4 cem filtriertem Eiklar injiziert, das einem anderen Ei entnommen worden war; 10 andere wurden in gleicher Weise mit 0.2 cem derselben Flüssigkeit behandelt; weitere 10 wurden mit 0.4 cem Aqua dest. injiziert; die übrigen 10 Kontrolleier wurden bloß angestochen, ohne daß darauf eine Injektion vorgenommen wurde. Vom Ende des dritten Tages angefangen wurde jeden zweiten Tag ein Ei aus jeder Reihe von 10 Stück zur Untersuchung entnommen.

Diese Versuchsserie konnte erst im Herbst begonnen werden. Da die Eier bekanntlich in dieser Jahreszeit zur Bebrütung wenig geeignet sind, hatte man mit einem verringerten Entwicklungsvermögen zu rechnen. Nur die jüngsten, 3 Tage alten Eier enthielten durchweg

entwickelte Keime (Abb. 1). Mehrere derselben erwiesen sich aber als so rückständig in der Entwicklung, daß anzunehmen ist, daß sie, wenn ihre Bebrütung fortgesetzt worden wäre, in der Folge durch Absterben weggefallen wären. In der Tat ergaben die 60 mit Hypophysenpräparaten injizierten Eier beim Eröffnen insgesamt nur 28 Föten, was nahezu 47% entspricht; die 40 Kontrolleier ergaben 16 Föten

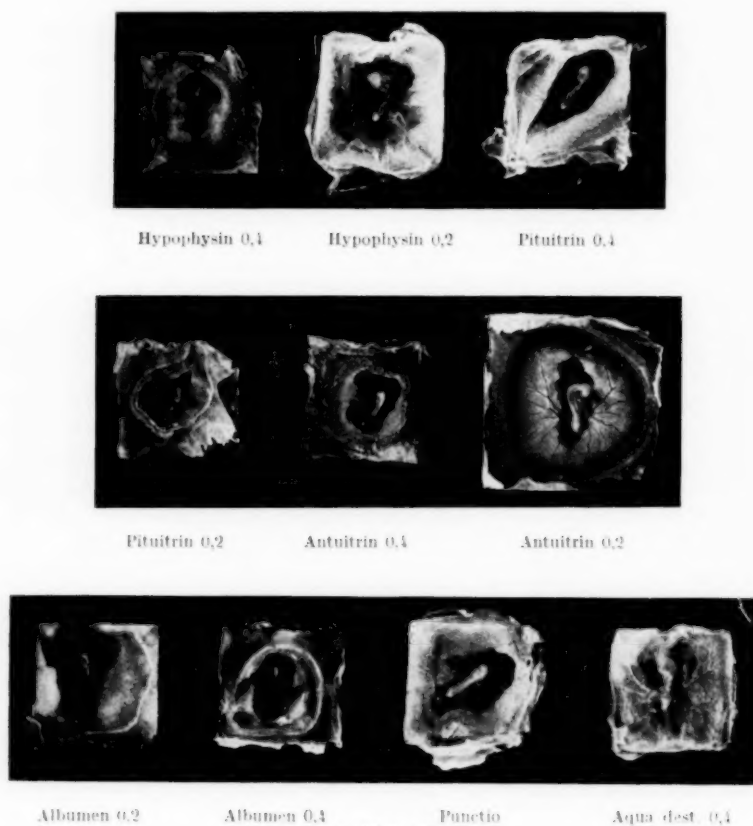


Abb. 1. Dreitägige Bebrütung.

(40%); unter diesen letzteren entstammten nur 3 den 10 angestochenen, nicht injizierten Eiern. Es läßt sich unter solchen Umständen wohl mit Recht vermuten, daß der hohe Prozentsatz der Eier, die ausfielen, nicht in erster Linie von dem vorgenommenen Eingriff abhing.

Was die qualitative Einwirkung der verwendeten Hypophysenpräparate anbetrifft, so habe ich nicht die Absicht, sie hier schon zu besprechen. Ebenso wie hinsichtlich der oben erwähnten Versuche

mit Schilddrübensubstanz gilt auch für sie, daß eine weit größere Erfahrung, auch betreffs der Dosierung, dazu erforderlich wäre; das innersekretorische System der »Hypophysenföten« muß auch vorerst einer qualitativen und quantitativen Prüfung unterworfen werden.



Abb. 2. Fünfehtentägige Bebrütung.

Nur so viel läßt sich jetzt sagen, daß letztere Föten, von außen gesehen und unzerstückelt gewogen, sich in der Regel als groß, aber nicht als übergroß erwiesen; irgendein grundsätzlicher Unterschied zwischen den mit Antuitrin und den mit Derivaten des Hypophysen-

hinterlappens behandelten Föten ließ sich nicht feststellen. Meistens war der eine oder der andere der Kontrollföten noch größer. Zur Erläuterung des Angeführten möge eine Reihe von Bildern vom 15. Brutungstage dienen (Abb. 2).

Von dem hier vorzugsweise in Betracht kommenden methodologischen Gesichtspunkt aus wichtiger sind aber ein paar andere Momente.

Erstens der schon berührte Umstand, daß, wie nicht nur die zuletzt angeführte, sondern auch die früheren Versuchsreihen lehrten, fast immer eine gewisse Verspätung der Entwicklung unabhängig von der Art des zugeführten Stoffes bemerkbar war. Durchschnittlich möchte ich diese Verspätung auf etwa 24 Stunden schätzen, was zu berücksichtigen ist, wenn es einem auf bestimmte Entwicklungsstadien ankommt.

Zweitens ist es von Wichtigkeit, zu erfahren, inwiefern die verwendete Methode an und für sich geeignet ist, Abnormitäten in der Entwicklung hervorzurufen. Diesbezüglich habe ich in der soeben angeführten Serie Erfahrungen gemacht, die erwähnt werden müssen. Bei nicht weniger als fünf der erhaltenen Föten lag nämlich eine Augenatrophie vor; dieselbe war in dreien der Fälle einseitig — und zwar überall rechtsseitig — in zweien doppelseitig. Die Mißbildung war anscheinend von der chemischen Beschaffenheit der injizierten Flüssigkeit nicht abhängig; zwei der Fälle mit einseitiger Atrophie entstammten Eiern, die mit 0.2 cem Pituitrin injiziert worden waren, ein Fall mit doppelseitiger Atrophie betraf eines der mit 0.4 cem Eiklar injizierten Kontrolleier, die zwei übrigen Fälle entstammten gleichfalls Kontrolleiern, die aber mit 0.4 cem Aqua dest. injiziert worden waren. Vielleicht liegt es unter solchen Umständen am nächsten, an Störungen der Druckverhältnisse im Ei — sei es der grobmechanischen oder der osmotischen — als teratogenes Moment zu denken. Jedenfalls ist auch von früheren Experimentatoren, so von *Firé*, *Ferrel* u. *Weber*, in Erfahrung gebracht worden, daß gerade Augenmißbildungen zu den häufigsten der experimentell hervorgerufenen Mißbildungen gehören.

Als beachtenswert möchte ich noch folgendes hervorheben:

Es bedeutet die Injektion ungelöster Substanzen allem Anschein nach eine beträchtlichere Schädigung des Eies als unter sonst vergleichbaren Verhältnissen die Injektion von Lösungen. Das Injizieren von Suspensionen erfolgt am besten in unmittelbarer Nähe des spitzen Eipols, damit kein Niederschlag fester Teile an der Dotterhaut und ganz besonders über der Keimscheibe zustande komme; solche Niederschläge haben fast ausnahmslos das Absterben des Keims zur Folge.

Die Lage des Eies nach der Injektion soll, wie schon oben angedeutet wurde, eine derartige sein, daß sich der Dotter nicht an eine der Läsionsstellen anlagern kann. Geschieht dies, so entsteht häufig

eine Verklebung der Dotterhaut mit der Schalenhaut, was in der Regel zu abnormer Entwicklung führt. Derartige Beobachtungen sind auch von früheren Experimentatoren gemacht worden.

Schon a priori ließe sich vermuten, daß das hier empfohlene Verfahren für eine Zufuhr zum Ei auch für andere Stoffe von sehr verschiedener Art, wie für Gifte, Nährstoffe, Stoffe, die den osmotischen Druck des Eiklars ändern, Antigene usw., verwertbar ist. In der Tat liegt in der Literatur diesbezüglich schon eine beträchtliche Erfahrung vor, worüber gleich mehr gesagt werden soll.

Da es wohl erforderlich ist, für einen jeden solchen Stoff nicht nur die zweckdienliche Dosierung, sondern auch den Einfluß einer Injektion in verschiedenen Stadien der Embryonalentwicklung auszuprobieren, so scheint der weitere technische Ausbau der Methode eine Aufgabe zu sein, der man in verschiedenen Fällen auf verschiedene Weise gerecht werden muß.

Geschichtliches.

Der Gedanke, durch Zufuhr fremder Stoffe zum Eiklar die Entwicklung des Vogelembryos im Ei zu beeinflussen, ist ja keineswegs ein fernliegender, und es war deshalb zu erwarten, daß meine diesbezüglichen Versuche auch nicht die ersten ihrer Art sein würden.

In der Tat findet man beim Durchsehen der Literatur, besonders jener etwas älteren Datums, eine nicht unbeträchtliche Menge von Arbeiten, die mit einer Methodik ausgeführt sind, welche mit der von mir benutzten mehr oder weniger nahe übereinstimmt. Die leitenden Gesichtspunkte waren aber damals andere als die hier angelegten, konstitutionellen. Hierin ist wohl vor allem die Erklärung dafür zu suchen, daß die betreffende Arbeitsweise nur ein vorübergehendes Interesse zu wecken vermochte und nunmehr allem Anschein nach derart in Vergessenheit geraten ist, daß ein Versuch, sie zu rehabilitieren, berechtigt sein kann.

Ausgangspunkt und Vorbedingung für die hier in Frage kommenden Versuche war die relativ große Resistenz äußeren Eingriffen gegenüber, welche dem Hühnerei erfahrungsgemäß zukommt. Diese Erfahrung datiert weit zurück. Hat doch *Bequelin* schon im Jahre 1749 eine «Mémoire sur l'art de couvrir les oeufs ouverts» veröffentlicht. Er entfernte gerade am stumpfen Pole ein zirkuläres Stück der Eischale von 6—8 Linien Durchmesser. Das Ei wurde mit dem genannten Pol nach oben gelagert, der Dotter durch verschiedene Kunstgriffe mit der Keimscheibe aufwärts gekehrt, die Öffnung mit einem genau anschließenden Stück Eischale überdeckt und das Ei in dieser aufrechten Stellung bebrütet. Solche Eingriffe wurden sowohl an unbebrüteten Eiern wie auch nach 1—3 tägiger Bebrütung ausgeführt.

Nach *Beguclin* haben mehrere Forscher diese oder ähnliche Methoden benutzt, um das wachsende Ei durch Abhebung des Deckels wiederholten Beobachtungen zugänglich zu machen. So in späterer Zeit *Preyer* (1885), *Teuscher* (1888), *Féré* (1897) und *Loisel* (1900). Die Methode ist auch durch Ankitten von Deckgläschen, Uhrgläschen u. dgl. als durchsichtigen Deckeln modifiziert worden. *Gerlach* (1887), *Féré* (1897) und *Loisel* (1900) haben sogar den ganzen Inhalt des Eies in eine Schale übertragen und die Bebrütung dort vorgenommen.

In diesen und anderen derartigen Fällen handelte es sich lediglich um fortlaufende Beobachtungen am lebenden Ei, und solche ließen sich nur kurze Zeit ausführen, indem auch in den günstigsten Fällen meistens ein Überleben bloß um wenige Tage vorkam.

Vom biologischen Gesichtspunkt aus noch interessanter waren die Versuche *Loisels* (1900/2), den Dotter des Hühnereies in das Eiklar von der Ente zu überführen und dort zu bebrüten. Dieser schon von *Beguclin* in Vorschlag gebrachte Versuch hatte in der allerdings geringen Anzahl von Fällen, wo er angestellt wurde, einen recht mäßigen Erfolg; unter sechs in dieser Weise behandelten Eiern zeigte nur eines, bei dem die Überführung in das heterogene Eiklar nach 12 stündiger Bebrütung erfolgt war, am dritten Tage einen lebenden Embryo; auch dieser war aber anormal.

Hier sei auch an die eingehenden Versuche erinnert, welche *Gerlach* (1887) anstellte, um seine mit einer besonderen Apparatur ausgeführte »Embryoskopie« zu begründen.

Injektionen eifremder Stoffe in das Hühnerei sind ebenfalls vielfach vorgenommen worden¹⁾. So von *Pouchet* und *Beauregard* (1877), deren Arbeit mir leider nicht zugänglich ist, aber angeblich die Entwicklung von Eiern behandelt, deren Eiweiß 50 cg Zucker zugeführt worden war. Ferner kommen hier u. a. in Betracht Untersuchungen von *Fubini* (1891) mit Kurare, von *Féré* (1893—1898), über welche unten mehr gesagt werden wird, von *Mirto* (1899) mit Neurin, Äthylalkohol und Azeton, von *Schimkewitsch* (1902) mit Kochsalz, Zucker, Wasser; auch Versuche mit Nikotin und Bromlithium werden erwähnt. *Zaretsky* (1910) berichtet über Vitalfärbungsversuche an Hühnereiern.

Sowohl hinsichtlich der Anzahl der angestellten Versuche, wie auch hinsichtlich der Menge der geprüften Substanzen übertreffen die Untersuchungen *Férés* sämtliche, die ich sonst in der Literatur angetroffen habe, und ich möchte dieselben hier mit einigen Worten besprechen.

¹⁾ *W. Roux* teilt mir mit, daß er 1876 Berlinerblau in die Keimhöhle des Hühnchens injiziert hat in der Hoffnung, daß die sie umgebenden Zellen den Farbstoff aufnehmen würden und daß vielleicht etwas Genaueres über die Herkunft des Entoblast ermittelt werden könnte. Nach der Bebrütung zeigte sich aber statt des blauen Farbstoffes eine intensiv gelbe diffuse Färbung in der Umgebung der Keimhöhle, so daß nichts Bezügliches zu erkennen war.

Nachdem *Féré* in einer Anzahl früherer Versuche Räucherungen von Eiern mit verschiedenen gasförmigen oder flüchtigen Stoffen gestellt hatte, ging er 1893 zu Injektionen über. Die hierbei benutzte Methode beschreibt er mit folgenden Worten: »On perfore la coquille préalablement lavée, avec une aiguille flambée, vers la grosse extrémité, de la manière à pénétrer dans l'albumen, sans atteindre la chambre à l'air; et en prenant les précautions antiseptiques nécessaires, on pratique l'injection avec la seringue de Malassez. On a soin de pratiquer la perforation et de faire l'injection en maintenant l'oeuf dans une position telle que l'albumen (peut) s'échapper par l'orifice pour faire place au liquide. Lorsqu'on pousse l'injection, après avoir enfoncé profondément la canule, il arrive souvent, si la quantité du liquide injecté ne dépasse pas un quart ou même un demi-centimètre cube, qu'elle trouve sa place sans que l'albumen soit rejeté au dehors, en refoulant la chambre à l'air. S'il s'écoule une petite quantité d'albumen, on essuie l'orifice que l'on obture rapidement avec la cire bouillante.«

Mit dieser Methode findet er nun, daß man in das Eiklar hinein wenigstens 1 ccm sterilisierter Aqua dest. injizieren kann, ohne die Entwicklung zu hemmen. Ferner hat er auf diese Weise die Wirkung einer großen Reihe verschiedener Stoffe, und zwar Salze, Gifte und organischer Stoffe, wie Glukose, Pepton, Kreatin und Xanthokreatin usw., geprüft.

Ich habe keine Veranlassung, auf die Ergebnisse dieser Versuche hier näher einzugehen. Sie haben zwar vielfach für unsere vorliegenden Zwecke den Wert von Vorversuchen, sind aber unter ganz anderen Gesichtspunkten ausgeführt worden als die hier vorgenommenen Experimente. Für *Féré* war ebenso wie auch für alle übrigen mir aus der Literatur bekannten Experimentatoren auf diesem Gebiete der teratologische Gesichtspunkt der leitende, und die Analyse der Ergebnisse wurde nicht weiter geführt als bis zur Feststellung, wie viele äußerlich normale, wie viele äußerlich als Mißbildungen erkennbare Embryonen aus den Einzelversuchen hervorgegangen waren.

Ja, *Ferret* und *Weber* (1904, 1904/5) haben sogar die Läsion der sekundären Eihüllen des Hühnereies als teratologische Methode empfohlen. Sie haben dabei den Einfluß jedes der verschiedenen sukzessiven Eingriffe, des Brechens der Kalkschale, der Perforation der Schalenhaut und des Einführens eines Platinafadens ins Eiklar, geprüft. Von diesen Eingriffen erwies sich der letztgenannte als der teratogenetisch wichtigste, indem die Autoren dabei fast konstant bedeutende Mißbildungen erhielten. Bei der Bewertung dieser Ergebnisse ist aber zu beachten, daß die betreffenden Eingriffe, dem teratologischen Zweck dieser Forscher entsprechend, gerade in der Umgebung der Keim-

scheibe erfolgten. Wurde das Ei nach dem Eingriff 180° weit um seine Achse gedreht, so bekamen sie, obgleich der Einstich in der Nähe der Keimscheibe erfolgte, unter sämtlichen entwickelten Embryonen 63% normale. Einstich am abschüssigen Teil des Eies (*au point déclive de l'oeuf*) rief ebenfalls keine Mißbildungen hervor.

Nach den Erfahrungen dieser beiden Autoren sollen Einstiche am spitzen Eipol auch besonders schädigend wirken: Alle so erhaltenen Embryonen waren nämlich abnorm. Da die Autoren ausdrücklich bemerken, daß ihre Versuche »wenig zahlreich« waren, so ist wohl zu vermuten, daß der Zufall bei diesem mit dem meinigen nicht übereinstimmenden Ergebnis mitgewirkt hat.

Ich für meinen Teil bin eher geneigt, der Äußerung von *Fol* und *Warynski* (1885) beizupflichten, wenn sie sagen (p. 313): »Nous ne songeons nullement à affirmer que l'enlèvement d'un segment de la coquille et sa remise en place ne puissent jamais exercer une influence sur le développement de l'embryon. Tout dépend de la manière dont l'opération est faite. Ce que nous pouvons affirmer, c'est qu'en procédant avec une certaine dextérité qui ne s'acquiert que par une longue pratique, on arrive à ne troubler en rien le cours du développement normal.«

Die jüngste Arbeit hier in Frage kommender Art, welche ich in der Literatur angetroffen habe, stammt von *Waclsch* (1914). Er injizierte scharlachgefärbtes Öl in das Dotter unter der Keimscheibe 24 Stunden nach dem Anfang der Bebrütung und untersuchte nach weiterer zweitägiger Bebrütung. Er fand Epithelwucherungen und »Vervielfachung« des Medullarrohrs am Hinterende des Embryos. Auf diese Befunde gestützt, meint er, daß das Scharlach ein Mittel ist, das bestimmte embryonale Zellen zur Wucherung anzuregen vermag. Dieser Deutung tritt *Weber* (1914) allerdings entgegen unter Hinweis darauf, daß seiner und *Ferrets* Erfahrung nach die bloße Beschädigung der Schalenhaut genügt, um derartige Mißgestaltungen hervorzurufen.

In keinem bisher veröffentlichten Aufsatz über die hier berührten Fragen habe ich Versuche angetroffen, die mit Hormonen bzw. mit innersekretorischen Organprodukten ausgeführt waren. Wie nahe aber die Vornahme gerade solcher Versuche in gegenwärtiger Zeit liegt, geht am besten daraus hervor, daß ich, nachdem meine seit langem geplanten Versuche schon begonnen waren, zufälligerweise erfuhr, daß Dr. *J. Näslund* schon im Herbst 1920 prinzipiell gleichartige Versuche mit Injektion von Corpus luteum-Lipoiden ausgeführt hatte. Nach mündlicher Mitteilung dieses Experimentators wurden diese Versuche in mehreren Fällen bis zum Ausschlüpfen des reifen Küchelchens aus dem Ei glücklich durchgeführt.

Durch diese Versuche, über welche wohl der Autor selbst Näheres mitteilen wird, gebührt die Priorität der Anwendung dieser Methode auf die innersekretorischen Probleme des Fötallebens allem Anschein nach Dr. Näslund.

Was die Vitalfärbung betrifft, so ist es überraschend, wie wenig von derartigen Versuchen an Vogelembryonen in der von mir durchgesehenen Literatur anzutreffen war. Während für den Säugerembryo mehrere Untersuchungen vorliegen, habe ich für den Vogelembryo überhaupt nur die oben erwähnte Arbeit von Zaretzky (1910) gefunden.

Die Farbstoffinjektionen wurden in seinen Versuchen meistens am zweiten oder dritten Tage der Bebrütung ausgeführt, also zu einem Zeitpunkt, wo das Gefäßsystem des Embryos schon in voller Entwicklung ist, gelegentlich noch später, am vierten, fünften und sechsten Tage. Die Injektionen erfolgten in die Luftkammer des Eies hinein. Geprüft wurden Pyrrolblau, Trypanblau, Methylenblau und Neutralrot. Mit allen diesen Stoffen war der Erfolg, was die Färbung des Embryos selbst anbetrifft, ein negativer. Dagegen färbten sich im Gefäßhof »die großen vaskularisierten (perivaskulären?) grobkörnigen Zellen«, indem ihr Protoplasma gefärbte Gebilde wechselnder Größe von kleinsten, staubförmigen bis zu großen, kugeligen hervortreten ließ.

Als besonders schädlich erwies sich das Neutralrot, indem es nach zwei bis drei Tagen den Tod des Embryo hervorrief; wurde die Injektion mit dem Farbstoffe vor dem Beginn der Bebrütung vorgenommen, so trat gar keine Entwicklung ein.

Nur die Injektion einer Fluoreszinlösung war erfolgreich. Eine 0,5 % ige Fluoreszinlösung erwies ebenso wie beim Säugerembryo die Penetrationsfähigkeit dieses Farbstoffes in die Gewebe des sich entwickelnden Embryo, seine absolute Unschädlichkeit und schnelle Wiederentfernung aus dem Organismus. Die Beobachtung zeigte ferner, daß das Eindringen des Fluoreszins in die embryonalen Gewebe durch Resorption des gefärbten Eiweißes erfolgt war.

Nachschrift.

Das Vorstehende wurde schon vorigen Herbst niedergeschrieben. Ich habe jedoch die Veröffentlichung verschoben in der Hoffnung, zuvor noch einige weitere Versuche anstellen zu können. Insbesondere hoffte ich, den angeblich lipoiden Extrakt des Vorderlappens der Hypophyse prüfen zu können, der in Amerika unter dem Namen Tethelin verwendet und wegen seiner kräftigen Wirkung gelobt worden ist. Leider ist mir dies jedoch nicht möglich geworden, da die einzige Firma, welche meines Wissens das Präparat für Handelszwecke herstellte, die H. K. Mulford Company in Philadelphia, mir brieflich mitteilte, daß sie mit der Herstellung nunmehr aufgehört hat.

Unter solchen Umständen beschloß ich, die Verwendbarkeit einiger anderer lipoider Stoffe zu Experimenten vorliegender Art in den Bereich der Untersuchung zu ziehen; ich tat dies um so lieber, als ich über eine relativ beträchtliche Menge von Lipoidstoffen verfügte, welche ich im Laufe einer anderen Untersuchung aus menschlichen Nebennieren durch Äther- bzw. Alkohol-Ätherextraktion und nachfolgender Verflüchtigung des Extraktionsmittels isoliert hatte.

Die betreffenden Nebennierenlipotide waren teils ungefärbt, teils mit Scharlach R stark gefärbt. Sowohl die ungefärbten als auch die gefärbten Lipotide entstammten einer großen Zahl — jede der beiden Gruppen ungefähr 50 — Nebennieren von Personen verschiedenen Alters und verschiedener Todesart. Sie wurden, die ungefärbten für sich und die gefärbten für sich, bei schwacher Wärme alle miteinander vermischt. Die Mischungen stellten eine bei Zimmertemperatur festweiche Masse dar, welche, um injiziert werden zu können, mit Pflanzenöl verdünnt wurde. Eine Hälfte der ungefärbten und eine Hälfte der gefärbten Lipoidportion wurden also mit Olivenöl zu gleicher Menge vermischt; den anderen Hälften wurde Mandelöl in gleicher Menge beigemischt. Von diesen verdünnten Lipoidgemischen wurden Dosen von 0,2 bzw. von 0,4 und 0,8 ccm insgesamt 80 Eiern injiziert. Zur Kontrolle dienten einerseits 20 ganz unbehandelte Eier, andererseits 60 weitere, denen Oliven- bzw. Mandelöl oder *Adeps lanae* in Dosen von 0,2 ccm injiziert wurden; alle die drei letzterwähnten Fettstoffe kamen sowohl ungefärbt als auch mit Scharlach gefärbt zur Verwendung. Die Versuchsserie umfaßte demnach im ganzen 160 Eier, von welchen etwa ein Drittel jeder Behandlungsart nach 7 tägiger, etwa ein Drittel nach 14 tägiger und ein etwa Drittel nach 21 tägiger Bebrütung untersucht wurde. Die Eröffnung der Eier wurde unter Wasser von Körpertemperatur vorgenommen.

Die 20 unbehandelten Kontrolleier ergaben nach 7 Tagen 4, nach 14 Tagen 6 und nach 21 Tagen 4, insgesamt also 14 Föten, von denen einer tot war. Die entsprechenden Zahlen der mit verdünnten Lipoidstoffen injizierten 80 Eier waren 5 bzw. 10 und 14, insgesamt also 29 Föten, von denen 13 abgestorben waren. Für die bloß mit Fetten gespritzten 60 Eier waren die entsprechenden Zahlen: 13, 10 und 9, insgesamt also 32, darunter 20 abgestorbene. Unter den 8 reifen Föten, die aus den injizierten Eiern hervorgingen, welche nach 21 Tagen untersucht wurden, entstammten 2 Eiern, die mit 0,2 ccm ungefärbtem Olivenöl injiziert waren und 1 einem mit der gleichen Quantität ungefärbtem Mandelöl behandeltem Ei; 2 waren mit 0,2 ccm ungefärbter Lipoid-Ölivenölmischung, 1 mit 0,2 ccm der gleichen gefärbten Mischung und 2 waren mit 0,4 ccm ungefärbter Lipoid-Mandelölmischung behandelt worden.

Ich brauche auf weitere Einzelheiten der verschiedenen Versuche nicht einzugehen, da die Untersuchung der injizierten Eier mit überzeugender Klarheit zeigte, daß die Ursache der übergroßen Schädigung, des beträchtlichen Prozentsatzes unentwickelter Eier und während der Entwicklung abgestorbener Embryonen nicht in erster Linie in der verschiedenen chemischen Beschaffenheit der injizierten Substanzen zu suchen ist.

Es lagen sogar in keinem einzigen Falle positive Belege dafür vor, daß die eingespritzten Lipoide und Fette wirklich von dem Fötus resorbiert worden waren. Nur in den soeben erwähnten Fällen, wo aus injizierten Eiern reife Föten hervorgingen, ließ sich aus dem Umstande, daß diese Stoffe nicht wiedergefunden werden konnten, eine Resorption derselben erschließen. Sonst waren die injizierten Stoffe in allen Fällen bei der Nachuntersuchung im Eiklar zu sehen, und zwar mit besonderer Auffälligkeit dort, wo sie durch die Scharlachfärbung kenntlich gemacht worden waren.

Der erhobene Befund macht es recht wahrscheinlich, daß *in das Eiklar injizierte wasserunlösliche Stoffe in den früheren Stadien der Embryonalentwicklung nicht zur Resorption kommen, sondern erst mit dem im Endstadium stattfindenden totalen Einverleiben des Eiklars in den Fötus aufgenommen werden.*

Die Verteilung der injizierten Stoffe, besonders auffällig, wo es sich um gefärbte Stoffe handelte, bot eine genügende Erklärung für den Ausfall der Entwicklung. Die injizierten Substanzen hatten sich in einigen Fällen gerade an der Einstichstelle am spitzen Eipol gesammelt und waren hier von einer festen Schicht von Eiklar gleichsam eingekapselt. Dies war dort der Fall, wo die Eier zur Entwicklung gekommen waren. In der Mehrzahl der Fälle war aber eine derartige vollständige Abkapselung nicht erfolgt. Die injizierte Substanz war ihrem geringeren spezifischen Gewicht entsprechend innerhalb des Eiklars in größerer oder geringerer Menge bis zu dem höchsten Punkte des Eies aufgestiegen und hatte sich dort über die Keimscheibe ausgebreitet. In den Fällen, wo es sich um die leichtbeweglichen Öle handelte, hatte sich ferner bei der Umwendung der Eier, welche während der Bebrütung stattfand, die Ölschicht der neuen Lage des Eies immer wieder angepaßt und war also auch jetzt nach dem höchsten Punkt des Eies gewandert. So fanden sich fast regelmäßig in den mit gefärbtem Öl beschickten Eiern an der Innenseite der Schale drei rotgefärbte Flecke: einer an der Einstichstelle am spitzen Pol und zwei an den beiden Stellen des Äquators, wo die angeschriebenen Nummern die während der Bebrütung des Eies zu oberst liegenden Punkte anzeigten.

Eine solche Ausbreitung der injizierten Stoffe innerhalb der Eischale dürfte wohl, von anderen denkbaren Wirkungen abgesehen, ein

ähnliches Hindernis für den Gasaustausch des Eies darstellen, wie dies erfahrungsgemäß eine Überziehung der Schale mit Firnis im Gebiete der Keimscheibe bewirkt. Es ist deshalb erklärlich, daß in beiden Fällen der Einfluß auf den Keim gleich deletär ist. Hiermit ist eine Erfahrung über die Grenzen der Brauchbarkeit der Methode gewonnen, die mir wichtig genug zu sein scheint:

Injizierte Stoffe, die spezifisch leichter als das Eiklar und in demselben nicht löslich sind, gefährden, wenn sie nach der Injektion ins Eiklar dem Gesetze der Schwere Folge leisten können, das Leben des Keims, indem sie sich oberhalb der Keimscheibe ansammeln und den Gasaustausch erschweren.

Ich habe hier einen Versuch gemacht, die Aufmerksamkeit auf eine schon alte Methode zu lenken, die geeignet zu sein scheint, in der Neuzeit aktuell gewordene Probleme der Konstitutionsforschung experimentell klarzulegen. Ich möchte meine Darlegungen nicht beschließen, ohne hervorgehoben zu haben, daß in jüngerer Zeit eine andere Methode veröffentlicht worden ist, die vielleicht demselben Zweck wie die hier beschriebene dienlich gemacht werden kann. Ich meine die von *Murphy* (1913) und *Vera Danchakoff* (1916, 1918) geübte Überpflanzung lebender Zellen auf die Allantois des Vogeleies. Da diese Gewebeskultur indessen erst dann ausführbar zu sein scheint, wenn die Allantois sich mit ihren Gefäßen an der Innenfläche der Eischale ausgebreitet hat, also am Ende der ersten Bebrütungswoche, so hat sie anscheinend eine zeitlich beschränktere Brauchbarkeit als die hier behandelte Methode.

Welche tiefgreifenden Einwirkungen auf den Fötus nichtsdestoweniger durch Gewebskulturen dieser Art an der Allantois des wachsenden Vogeleies hervorgerufen werden können, dafür erbringen die hochinteressanten Resultate über eine Umgestaltung der Leukozytenverhältnisse des Fötus durch Milztransplantation, über welche besonders die letzterwähnte Verfasserin berichtet, eindrucksvolle Belege.

Auf meinen Vorschlag hin hat Dr. *J. Näslund* eine Prüfung der Verwendbarkeit der betreffenden Transplantationsmethode über eine Frage innersekretorischer Natur begonnen.

Literatur.

(Mit * bezeichnete Arbeiten waren mir nicht zugänglich.)

Béguelin, 1749, Mémoire sur l'art de couvrir les œufs ouverts. Histoire de l'Acad. des Sciences et Belles-Lettres Berlin. p. 71. — *Danchakoff, Vera*, 1916, Equivalence of Different Hematopoietic Anlages. (By the Method of Stimulation of Their Stem Cells.) I. Spleen. Am. Journ. Anat. 20. — *Dies.*, 1918, II. Grafts of Adult Spleen on the Allantois and Response of the Allantoic Tissues. Ibi-

dem 24. — *Féré, Ch.*, 1894—1898, Eine große Menge kleiner Mitteilungen in *Compt. rend. Soc. Biol. Paris, Sér. X*, 1—3, 5. — *Ders.*, 1895, Études expérimentales sur l'influence tératogène ou dégénérative des alcools et des essences sur l'embryon de poulet. *Journ. de l'anat. et de la physiol.* 31. — *Ders.*, 1897, Note sur la résistance de l'embryon de poulet aux traumatismes de l'œuf. *Ibidem* 33. — *Ferret, P. E.*, 1904, Essai d'embryologie expérimentale. Influence tératogénique des lésions des enveloppes secondaires de l'œuf de poulet. Thèse, Nancy. (Auch in *Arch. d'anat. microscop.* 7.) — *Ders. u. Weber, A.*, 1904, Malformations du système nerveux de l'embryon de poulet obtenus expérimentalement. Anomalies des ébauches oculaires primitives. *Compt. rend. Soc. Biol. Paris* 36. — *Fol, H.*, u. *Warynski, S.*, 1885, Sur la méthode en tératogénie. *Recueil zool. suisse* 2. — **Fubini*, 1891, Influence du curare sur le développement du poussin. *Arch. ital. de biol.* 15. — *Gerlach, L.*, 1882, Über ein Verfahren, bei horizontal gelagerten Hühnereiern den die Keimscheibe überdeckenden Bezirk der Eischale möglichst genau zu bestimmen. *Sitzungsber. Phys.-med. Soc. Erlangen.* — *Goldschmidt, R.*, 1917, Intersexuality and the endocrine aspect of sex. *Endocrinology* 1. — *Hammar, J. A.*, 1912, Lipoidbildung in den weißen Blutkörperchen. *Mikroskopische Studien zur Autolyse des Blutes.* K. Svenska Vet.-Akads. *Handl. N. F.* 49, 3. — *Lillie, F. R.*, 1903, Experimental Studies on the Development of the Organs in the Embryo of the Fowl (*Gallus domesticus*). *Biol. Bull.* 5. — *Ders.*, 1917, The freemartin; a study of the action of sex hormones in foetal life of cattle. *Journ. Exper. Zool.* 23. — *Loisel, G.*, 1900, Incubation d'ovules de poule retirés de leur coquille. *Compt. rend. Soc. Biol. Paris* 52. — *Ders.*, 1900, 2, Développement d'ovules de poule incubés dans de l'albumen de canard. *Ibidem.* — *Mirto, G.*, 1899, Sul potere teratogeno o degenerativo della neurina, dell'alcool etilico e dell'acetone sul sistema nervoso embrionale. *Ann. di Neurologia* 27. — *Murphy, J. B.*, 1913, Transplantability of Tissues to the Embryo of Foreign Species. Its Bearing on Questions of Tissue Specificity and Tumour Immunity. *Journ. exp. Med.* 17. — *Ders.*, 1916, The effect of adult chicken organ grafts on the chick embryo. *Ibidem* 24. — *Peebles, Florence*, 1898, Some Experiments on the Primitive Streak of the Chick. *Arch. f. Entw.-Mech.* 7. — **Pouchet u. Beauregard*, 1877, Note sur le développement d'œuf à l'albumine desquelles on a ajouté 50 centigr. du sucre cristallisé. *Gaz. méd. de Paris.* — *Preyer, W.*, 1884, Spezielle Physiologie des Embryo. Leipzig. — *Schimkewitsch, W.*, 1902, Über die Entwicklung des Hühnchens unter künstlichen Bedingungen. *Anat. Anz.* 20. — **Tarulli, L.*, 1890, La pressione nell'intorno dell'uovo di pollo e i suoi effetti sullo sviluppo. *Atti e Rendiconti d'Accad. med.-chir. Perugia* 2. — *Teuscher, H.*, 1888, Einige Beobachtungen am lebenden Hühnerembryo. *Fortschr. d. Med.* 6. — *Waelsch, L.*, 1914, Über experimentelle Erzeugung von Epithelwucherungen und Vervielfachungen des Medullarrohres bei Hühnerembryonen. *Arch. f. Entw.-Mech.* 38. — *Weber, A.*, 1914, A propos du travail de L. Waelsch intitulé: Experimentelle Erzeugung usw. *Ibidem* 40. — *Zaretzky, S.*, 1910, Versuche über vitale Färbung des Embryo. *Virchows Arch.* 201.

Über die Wirkung der Alkoholnarkose auf die Entwicklung der Seeigelleier (*Strongylocentrotus lividus*).

Von

Dr. Wera Polowzow.

Mit 36 Textabbildungen.

(Eingegangen am 18. August 1922.)

Inhaltsübersicht.

| | Seite |
|--|-------|
| I. Einleitung | 68 |
| A. I. Teil: Monosyncytien | 68 |
| 1. Methodik | 70 |
| 2. Allgemeiner Charakter der in den Alkohollösungen sich entwickelnden Eier | 72 |
| a) Monosyncytien; b) Furchungsformen; c) große Kerne I. und II. Art; d) unentwickelte Eier; e) Degenerationsformen. | |
| 3. Monosyncytien und multipolare Mitosen mit deren Eigentümlichkeiten: Formverschiedenheit, Regellosigkeit in der Anordnung und Zahl der Zentrosomen, Spindeln und Chromosomen. Reduktion der Chromosomenzahl in den Tochterkernen | 74 |
| 4. Zentrale mehrpolige Mitosen und Bildung von großen gelappten Kernen II. Art | 81 |
| 5. Furchung der Monosyncytien und deren atypischer Charakter. Zusammenhang der Formbildung und der Furchung | 84 |
| 6. Große Kerne I. Art als Beweis der Unabhängigkeit vegetativer Kernfunktionen von den motorischen | 92 |
| 7. Degenerationsformen | 94 |
| 8. Schlußfolgerungen | 96 |

I. Einleitung.

Die vorliegende Mitteilung hat zum Gegenstand die Untersuchung der Narkosewirkung auf die Entwicklung der Seeigelleier (*Strongylocentrotus lividus*). Bei der Anstellung meiner Versuche setzte ich mir zum Ziel, das Wesen der Narkosewirkung auf die Zelle zu untersuchen und etwaige morphologische Veränderungen in derselben nachzuweisen. Es schien mir außerdem möglich, auf Grund des bekannten Narkosebildes bei den höheren Tieren und dem Menschen, welches eine sukzessive Reihe der Erlöschung von Lebensfunktionen darstellt (Bewußtsein, Sensibilität, aktive Bewegungen, Reflexe usw.), auch in der Zelle verschiedene ihr eigene Prozesse zeitlich zu differenzieren und deren Zusammenhang bzw. das Fehlen desselben nachzuweisen, durch Unterwerfen derselben verschieden langer bzw. starker Einwirkung der Narkose.

Zweitens habe ich mich der Narkose bedient, als eines Mittels, welches es gestattet, sich der Entscheidung einiger interessanter und wichtiger Probleme zu nähern, wie die Entstehung der multipolaren Mitosen, die Grenzen des syncytialen Zustandes des sich entwickelnden Eies, die Formbildung und die regulatorischen Prozesse bzw. das Vorhandensein eines regulierenden Apparates in demselben.

Als bestes Objekt für solche Untersuchungen erscheinen die Seeigeleier, welche, dank ihrer Durchsichtigkeit, die Beobachtungen verschiedener Lebensprozesse im Protoplasma und Kern in Vivo gestatten. Zur erfolgreichen Lösung der aufgestellten Probleme war nun ein Narkotikum nötig, welches, seine Eigenschaften während längerer Zeit erhaltend, einer exakten Dosierung fähig und nicht sehr flüchtig wäre, keine toxische Wirkung auf die Eier ausübte und dabei eine dauernde und konstante Narkose geben würde.

Nachdem ich die gebräuchlichsten Narkosemittel — Chloroform, Chloretone, Chloralhydrat, Äther und Alkohol — angewandt hatte, wählte ich letzteren aus, als ein Mittel, welches sämtlichen aufgestellten Forderungen in vollem Maße entspricht und in chemisch reinem Zustande leicht zu haben ist. Mit Hilfe der Alkoholnarkose gelang es mir, wie es scheint, auf einige der aufgestellten Fragen eine befriedigende Antwort zu geben und der Lösung anderer näher zu treten.

Den oben benannten Aufgaben entsprechend, können meine Untersuchungen in zwei Gruppen angeordnet werden: I. Die Erforschung der Monosyncytien und II. die Untersuchung der Polysyncytien, wozu die Di-, Tetra-, Okto- und die eigentlichen Polysyncytien einzuzählen sind.

Die erste Versuchsserie wurde an befruchteten aber nicht geteilten Seeigeleiern angestellt und beschäftigt sich mit folgenden Fragen: Über morphologische Veränderungen bei der Narkose, über die Syncytien und das Entstehen der multipolaren Mitosen, über den Zusammenhang zwischen der Furchung und der Formbildung und über die Regulationsprozesse in dem sich entwickelnden Ei.

Die zweite Versuchsreihe wurde an Eiern in verschiedenen Furchungsstadien (2, 4, 8 und mehr Zellen) angestellt mit dem Zweck, sowohl die Wirkung der Narkose auf spätere Stadien, wie den funktionellen Zusammenhang der einzelnen Blastomeren zu untersuchen und die regulatorischen Prozesse in späteren Entwicklungsstadien, sowie das Vorhandensein eines Regulationsapparates zu erforschen. Indem bekanntlich der Wert der wissenschaftlichen Folgerungen durch die Menge des erforschten Materials erhöht wird, beschränkte ich mich in meinen Versuchen nicht auf die Untersuchung individueller Veränderungen einzelner Zellen unter der Einwirkung von Alkoholnarkose, sondern unternahm auch die Beobachtung großer Mengen von Eiern

in jedem Versuche und bediente mich für einige meiner Schlußfolgerungen des großen statistischen Materials aus den Zählungen von Hunderten von Eiern.

Der experimentelle Teil der vorliegenden Arbeit wurde im Sommer 1912 und 1913 auf der Zoologischen Station Villefranche s Mer ausgeführt, wohin ich von der mathematisch-physischen Fakultät der Hochschule für Frauen in Petrograd kommandiert wurde. Ich benutze hier die Gelegenheit, Herrn *M. M. Davidoff* und dem gesamten Personal der Station für ihre Bereitschaft mit allen ihnen zugänglichen Mitteln den Arbeitenden entgegenzukommen, meinen aufrichtigsten Dank auszusprechen. Ein Teil des gesammelten und fixierten Materials wurde auf der Stelle mikroskopisch untersucht und diente direkt als Richtschnur für weitere Versuchsanordnung, das übrige Versuchsmaterial wurde im Histologischen Laboratorium der Hochschule für Frauen in Petrograd bearbeitet und untersucht. An dieser Stelle möchte ich meinem hochverehrten Lehrer, Herrn Professor *A. G. Gurwitsch*, sowohl für seine wertvollen Ratschläge bei der Ausführung der vorliegenden Untersuchung, wie auch insbesondere für seine stetige Anregung und Unterstützung in meiner wissenschaftlichen Arbeit, meine tiefste Dankbarkeit aussprechen. Im Zusammenhang mit dem Weltkrieg und dem darauf folgenden bürgerlichen Krieg war ich während 8 Jahren in Unmöglichkeit gesetzt, wissenschaftlich zu arbeiten. Nur im laufenden Jahre bekam ich wieder die Gelegenheit, das früher bearbeitete und nur ganz zufälligerweise nicht zugrunde gegangene Material für die vorliegende Mitteilung auszunützen.

II. Methodik.

Als Material für meine Versuche benutzte ich die Eier von *Strongylocentrotus lividus*, welche auf der Zoologischen Station in beliebiger Menge in frischem Zustande zu haben waren. Um die Einwirkung äußerer Bedingungen, insbesondere der Temperaturänderungen, zu vermeiden, wurden meine Versuche immer in gleichartiger Weise angestellt: gewöhnlich um 8—8½ Uhr morgens wurden frisch gefangene Seeigel eröffnet, die Eier durch eine Glaspipette aus dem Eierstock in ein Glasschälchen mit Seewasser ausgeblasen und auf deren Reifezustand mikroskopisch untersucht, wobei nur normale reife Eier zu weiteren Versuchen verwendet wurden. Zur Vermeidung der Polyspermie wurde die Befruchtung mit sehr verdünntem Sperma ausgeführt und die Eier sofort nach der Bildung der Befruchtungsmembran von dem überflüssigen Sperma abgespült. Dann wurden sie bis zur Erscheinung der ersten Furchungsspindel ruhig im Seewasser liegen gelassen. In der Regel wurden die Eier auf diesem Stadium mittels der Pipette in flache Glasschälchen mit verschiedenen Alkoholkonzen-

trationen übertragen und zur Vermeidung dessen Verdunstung mit Glasplatten gedeckt, in der Weise, daß über der Flüssigkeitsoberfläche eine geringe Luftschicht übrigbliebe. In jedem Versuch wurden mehrere Kontrollportionen in reinem Seewasser gelassen und gleichzeitig mit den Versuchseiern fixiert.

In kurzen Intervallen wurden die Eier in lebendem Zustande mikroskopisch untersucht, wobei gelegentlich die Vitalfärbung mit Neutralrot nach *A. Fischel* angewendet wurde, welche es gestattete, die Entwicklung lebender Eier zu beobachten. In den Protokollen wurden die Entwicklungsstadien, das Vorhandensein der Syncytien, Ruhe- oder Teilungszustand, normaler oder atypischer Furchungstypus und sämtliche der Beobachtung zugängliche Veränderungen im Protoplasma und Kern eingetragen. Sämtliche Versuche, in welchen die Kontrollportionen pathologische Veränderungen darboten (Plasmolyse, Quellung, Körnelung, Fragmentierung usw.) wurden überhaupt nicht in Betracht gezogen, und zu weiterer Untersuchung nur diejenigen verwendet, deren Kontrolleier vollkommen normal sich entwickelten. Auf verschiedenen Entwicklungsstadien wurden einzelne Portionen in den Lösungen von *Bouin*, *Flemming* oder *Carnoy* fixiert, in Paraffin eingebettet, daraus Serienschritte gemacht, welche mit Eisenhämatoxylin nach *Heidenhain* oder Hämalaun gefärbt und sogleich zwecks weiterer Orientierung mikroskopisch untersucht wurden. Für sämtliche Versuche benutzte ich chemisch reinen absoluten Alkohol (100%), aus dem die nötigen Konzentrationen in Seewasser bereitet wurden. Aus den ersten Versuchen mit verschiedenen Konzentrationen stellte es sich heraus, daß am günstigsten für die Narkose die Verdünnungen von $2\frac{1}{2}$ –3% Alkohol sind; in den starken Lösungen von 20–5% zeigten die Eier Plasmolyse, Fragmentation und starben ab; in 5- bis 3%iger Lösung bilden einige Eier Syncytien, während deren Mehrzahl keine weitere Entwicklung zeigen und am Ende auch zugrunde gehen; in 2- bis $\frac{1}{2}$ %igem Alkohol vermindert sich die Zahl der syncytialen Eier zugunsten der gefurchten und in der $\frac{1}{2}$ %igen findet man gewöhnlich überhaupt keine Syncytien mehr und die Eier machen den normalen Furchungsprozeß durch. Es muß betont werden, daß auch im Verhalten zu den optimalen ($2\frac{1}{2}$ –3%) Konzentrationen sowohl in verschiedenen Eiportionen, wie auch bei den Eiern einer bestimmten Portion individuelle Verschiedenheiten in deren Reaktion auf die Narkose beobachtet werden, welche unter anderem in mehr oder weniger ausgesprochener Resistenz und Fähigkeit der Syncytienbildung sich äußern. Bei einer und derselben Konzentration, z. B. $2\frac{1}{2}$ %, bilden die Eier von einem Weibchen fast sämtlich Syncytien, von einem zweiten erscheinen sie zum größten Teil gefurcht und von dem dritten steht überhaupt jede Entwicklung still; das gleiche in etwas schwächerem

Grade wird auch in den verschiedenen Eiern eines und desselben Weibchens beobachtet, wodurch ein sehr buntes Bild der in der Narkose sich befindlichen Eier bedingt wird. Indem die Versuche immer unter möglichst gleichartigen Bedingungen angestellt wurden, muß man allem Anschein nach den Grund dieser Verschiedenheit in den inneren individuellen Eigenschaften der Eier selbst, in deren Reifungsgrade und Empfänglichkeit zur Narkose suchen.

III. Das allgemeine Bild der in den Alkohollösungen sich entwickelnden Eier.

Beim ersten Anblick einer Portion lebender Eier, welche der Einwirkung von Alkohollösungen während längerer Zeit unterworfen waren, fällt große Buntheit des Bildes auf: die Mehrzahl der Eier stellen einzelne oder Monosyncytien dar, mit größerer oder geringerer Zahl der Kerne von verschiedener Größe, welche meist an der Peripherie, manchmal aber auch im zentralen Teil des Eies gelagert sind. In einem Teil der Eier sind die Kerne im Ruhezustand, in den anderen sind sowohl einzelne, wie auch polyzentrische Mitosen mit einer großen Anzahl von Strahlungen gut unterscheidbar. Daneben finden sich geteilte oder in Furchung begriffene Eier, deren Furchungstypus vom normalen abweicht; außerdem beobachtet man ungeteilte Eier mit einem, seltener zwei oder drei enormen runden oder ovalen Kernen mit scharf begrenzter Kernmembran und hellem, körnigem Kernsaft, in dem eine ungemein große Menge runder Kernkörperchen zerstreut sind — *große Kerne I. Art.* Es gibt außerdem noch Eier mit *großen Kernen II. Art.*, welche durch ihre komplizierte Form mit zahlreichen gelappten Fortsätzen und hellem Inhalt ausgezeichnet sind. Ein geringer Prozentsatz der Eier entwickeln sich nach der beendeten Befruchtung überhaupt nicht weiter und stellen Kerne in Form von hellen, runden Bläschen dar. Endlich trifft man in den Eiportionen, welche längere Narkose überstanden haben, eine größere oder geringere Zahl von Degenerationsformen, die sowohl Protoplasma wie auch Kernveränderungen aufweisen und die zuletzt sich fragmentieren und absterben. Schon bei der flüchtigen Untersuchung lebender Eier nach mehr oder weniger lang dauerndem Verweilen in $2\frac{1}{2}$ —3%iger Alkohollösung erweist sich erstens verschiedene Reaktion der Eier auf ungleiche Narkosegrade und zweitens verschiedene individuelle Empfänglichkeit derselben zu der Narkose. Zur Aufklärung der gegenseitigen Verhältnisse zwischen sämtlichen genannten Formbildungen unternahm ich Zählungen derselben auf fixierten und gefärbten Schnittserien und erhielt folgende Resultate, die in der Tabelle I zusammengesetzt sind. Wie aus derselben ersichtlich, wird die Narkosewirkung durch zwei Momente bedingt: 1. durch die Konzentration des Alkohols und 2. durch

Tabelle I.

| Versuchsnummer | Wirkungsdauer | Alkohol-konzentration | Gesamte Eierzahl | Monosyncytien | Differenz | Furchungsformen | Differenz | Große Kerne I. und II. Art | Differenz | Degenerationsformen | Differenz |
|----------------|-----------------|-----------------------|------------------|---------------|-----------|-----------------|-----------|----------------------------|-----------|---------------------|-----------|
| 43 I | 3 ⁴⁰ | 2 1/2 ‰ | 1066 | 55 ‰ | - 22 | 45 ‰ | + 20 | — | — | — | — |
| | 4 ⁴⁰ | „ | 1037 | 33 ‰ | | 65 ‰ | | 2 ‰ | + 2 | — | — |
| 43 II | 6 ⁰ | „ | 1343 | 44 ‰ | - 14 | 51 ‰ | - 1 | 2 ‰ | + 7 | 3 ‰ | + 8 |
| „ | 7 ⁰⁰ | „ | 1048 | 30 ‰ | | 50 ‰ | | 9 ‰ | | 11 ‰ | |
| 42 I | 3 ³⁰ | 3 ‰ | 737 | 58 ‰ | - 3 | 1 ‰ | + 2 | 39 ‰ | + 2 | 2 ‰ | - 1 |
| „ | 4 ³⁰ | „ | 900 | 55 ‰ | | 3 ‰ | | 41 ‰ | | 1 ‰ | |
| 42 II | 6 ⁰ | „ | 751 | 56 ‰ | - 11 | 7 ‰ | + 1 | 28 ‰ | + 7 | 9 ‰ | + 3 |
| „ | 6 ⁴⁵ | „ | 745 | 45 ‰ | - 9 | 8 ‰ | + 20 | 35 ‰ | | 12 ‰ | + 3 |
| „ | 7 ⁰ | „ | 769 | 36 ‰ | | 28 ‰ | | 7 ‰ | - 28 | 29 ‰ | + 17 |

die Dauer dessen Einwirkung auf die Eier: stärkere Konzentrationen (3‰) versenken die Eier schon in den ersten Stunden in tiefe Narkose, welche sich in der Paralyse der Bewegungsfähigkeit nicht nur des Protoplasmas, welches die Teilungsfähigkeit einbüßt (Syncytienbildung), sondern in gewissem Maße auch des Kernes (vermehrte Mengen von großen Kernen I. und II. Art), äußert. In schwächeren Konzentrationen (2 1/2 ‰) haben in einer großen Zahl der Eier, sowohl der Kern wie das Protoplasma, ihre motorischen Eigenschaften erhalten (45—65‰ gefurchter Eier); in den übrigen Eiern verfällt allem Anschein nach nur das Protoplasma der Narkosewirkung (Syncytien), während der Kern seine Teilungsfähigkeit nicht eingebüßt hat.

Bei fortdauernder Narkose stellt es sich heraus, wie verschieden sich die Eier dabei verhalten: Während die einen sich an das alkoholische Medium anzupassen scheinen und sich allmählich von der tiefen Narkose zu befreien anfangen (die Vermehrung der Zahl der gefurchten Eier nach 4⁴⁰ Stunden in der 2 1/2 ‰igen und nach 7 Stunden in der 3 ‰igen Lösung), wird in den anderen die Narkosewirkung vermehrt, indem sie auch die Kerne betrifft, in welchen die Teilungen aufhören und welche zu großen Kernen I. und II. Art anwachsen. Gleichzeitig wird die Zahl der Degenerationsformen bzw. der absterbenden Eier progressiv vermehrt, hauptsächlich auf Kosten der Eier mit den großen Kernen. Die auf den ersten Blick unbegreifliche Tatsache, daß die Zahl der gefurchten Eier in 3‰iger Lösung nach 7 Stunden nicht proportional der Verminderung der Syncytien sich vermehrt hat, sondern um 11% mehr, erklärt sich aus der Anwesenheit einer bedeutenden Menge von Eiern mit den großen Kernen II. Art (35‰), welche die Teilungsfähigkeit nicht verloren haben, so

daß sie bei der Abschwächung der Narkosewirkung sich zu furchen vermögen.

Dank der Anwendung der statistischen Methode zur Untersuchung der Narkosewirkung auf die Eier von *Strongylocentrotus lividus* waren wir imstande, ohne weiteres erstens das äußerst individuelle Verhalten einzelner Eier zu der Narkose festzustellen und zweitens bis zu einem gewissen Grade deren Einfluß auf verschiedene Protoplasma- und Kernfunktionen zu differenzieren.

IV. Monosyncytien.

Wie aus der Tabelle I ersichtlich, reagieren ungefähr 50 % der der Narkose ausgesetzten Eier durch Bildung von Syncytien, wobei diese Wirkung sehr schnell eintritt: im Laufe der ersten Karyokinese im

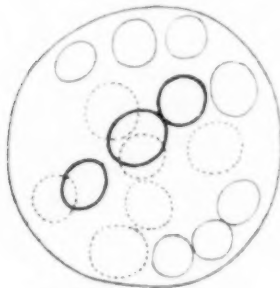


Abb. 1.

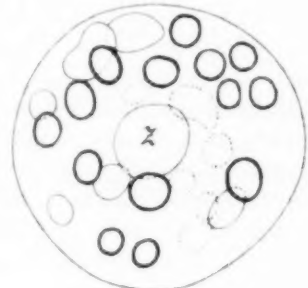


Abb. 2.

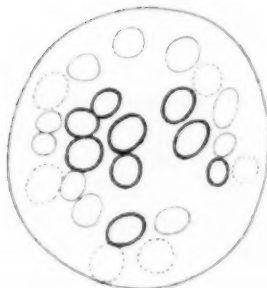


Abb. 3a.

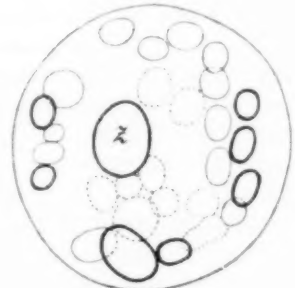


Abb. 3b.

Abb. 1–3 b. Monosyncytien im Ruhezustand nach 6stündiger Einwirkung einer 2½%igen Alkohollösung. Abb. 1 sämtliche Kerne an der Peripherie gelagert; Abb. 2 und 3 b durch Z bezeichnete Kerne zentralwärts gelagert. In Abb 3 a und 3 b sind zwei Hälften eines und desselben Eies abgebildet, jedes Bild aus drei Schnitten kombiniert, enthaltend 54 Kerne.

befruchteten Ei, welches auf dem Stadium der ersten Furchungsspindel in die alkoholische Lösung gelegt wird, tritt eine Paralyse der Bewegungsfunktion des Protoplasmas ein, welche in der Unfähigkeit desselben zur Teilung sich äußert, während der Kern normale Karyokinese

weiter durchmacht; infolge einer fortlaufenden Reihe solcher Teilungen entsteht das *Monosyncytium*. In früheren Stadien mit 4–16 Kernen im Ruhezustande (Abb. 1), zeigen die Kerne in der Regel gleiche Dimensionen und sind symmetrisch an der Peripherie des Eies gelagert. Im Laufe der Entwicklung zeigen sie verschiedenen Durchmesser, manchmal unregelmäßige Form, wobei die größten sich im zentralen Teil des Eies lagern, während die kleineren die Peripherie desselben einnehmen (Abb. 2, 3a und 3b). Dem Bau nach zeigen sie gegenüber den normalen Blastomerenkernen keinen Unterschied: sie sind von einer Kernmembran umgeben und enthalten hellen Kernsaft mit einem zarten Chromatinnetz. In den mehrkernigen Syncytien begegnen wir gewöhnlich Kernen von drei bis vier verschiedenen Dimensionen. Die



Abb. 4.



Abb. 5.

Abb. 4. Peripher gelagerte multipolare Mitose im Stadium der Metaphase aus mehreren Schnitten kombiniert, illustriert die ungleichmäßige Verteilung der Chromosomen in den Muttersternen und allgemeine Regellosigkeit der Karyokinese (in 3%igem Alkohol 6 Stunden nach der Befruchtung).

Abb. 5. Zentral gelegene multipolare Mitose mit verwickelter Lagerung der Zentrosomen, Spindeln und Chromosomen (in 3%igem Alkohol 5 Std. 40 Min. nach der Befruchtung.)

Zahl der Kerne in den Monosyncytien aus einer und derselben Versuchsportion der narkotisierten Eier stellt große Schwankungen dar: so z. B. im Versuch Nr. 43, nach 6stündigem Verweilen in 2 $\frac{1}{2}$ %iger Alkohollösung, erhielten wir folgende Zahlen: 16, 25, 28, 29, 32, 34, 36, 38, 40, 41, 43, 45, 47, 48, 51, 52, 54, 61 und 70, daraus in 11 Eiern gerade und in 8 ungerade Zahlen; folglich enthalten ungefähr $\frac{1}{3}$ Syncytien eine durch 2 nicht teilbare Zahl der Kerne, was, wie im Folgenden klargelegt wird, große theoretische Bedeutung hat. In den Monosyncytien sind entweder vereinzelte bipolare an der Peripherie des Eies gelagerte Mitosen enthalten, oder zusammengesetzte multipolare Mitosen, welche an der Eioberfläche ein ununterbrochenes Netz von Spindeln und Strahlungen bilden (Abb. 4). Eine ganz gesonderte Gruppe stellen zentral gelagerte multipolare Mitosen dar, welche aus außerordentlich kompliziert gebauten Bildungen mit Fortsätzen und Einkerbungen zusammengesetzt sind und sehr verwickelte

Anordnung der Spindeln besitzen (Abb. 5). Als ein charakteristisches und konstantes Merkmal der Monosyncytien erscheint strenger Synchronismus der Ruhe- und Teilungsphasen in sämtlichen Kernen. Im Gegensatz zu dieser genauen Regulierung des Tempo der Mitosen treffen wir äußerste Regellosigkeit und Verwirrung in der Zahl der Zentrosomen, Chromosomen und der Spindeln der mehrpoligen Mitosen.

Tabelle II. Monosyncytien.

| Versuchsnummer | Von der Befruchtung verfllossene Zeit | Dauer der Alkoholkwirkung | Alkoholkonzentration | Zahl der Zentrosomen | Zahl der Spindeln | Gesamte Chromosomenzahl | Metaphase | | | Anaphase | | |
|----------------|---------------------------------------|---------------------------|----------------------|----------------------|-------------------|-------------------------|-----------|---------|------------|----------|---------|------------|
| | | | | | | | Maximum | Minimum | Mittelwert | Maximum | Minimum | Mittelwert |
| 5a | 5 ^h | 5 ^h | 3 0/10 | 32 | 31 | 242 | 16 | 5 | 8 | — | — | — |
| " | " | " | " | 42 | 51 | 262 | 8 | 2 | 6 | — | — | — |
| " | " | " | " | 37 | 37 | 236 | 24 | 1 | 6 | — | — | — |
| 43 | 5 ^h | 4 ^h | 2 1/2 0/10 | 55 | 53 | 310 | — | — | — | 12 | 1 | 9 |
| " | " | " | " | 14 | 15 | 133 | — | — | — | 8 | 2 | 4-5 |
| " | 7 ^h | 7 ^h | " | 20 | 26 | 146 | 9 | 4 | 7 | — | — | — |
| " | " | " | " | 15 | 22 | 132 | 11 | 3 | 9 | — | — | — |

Wie aus der vorliegenden Tabelle II ersichtlich, bietet die Zentrosomenzahl in den Eiern einer und derselben Portion, welche sich in ganz identischen Bedingungen entwickelten, bedeutende Schwankungen dar: in der 3 % igen Alkohollösung begegnen wir den Zahlen: 32, 42, 37 nach 5 stündiger Narkosewirkung; in 2 1/2 % iger Lösung nach 4 Std. 10 Min., 55 und 14 und nach 7 Std. 40 Min. — 20 und 15¹⁾. Dabei bilden ungefähr 1/3 der Zentrosomenmengen ungerade Zahlen. Den Fehler bei der Zählung können wir aus dem Grunde ausschließen, weil dieselben Resultate auch die Zählung der ruhenden Kerne gegeben hat, welch letztere ganz leicht und fehlerfrei ausführbar ist. Schon diese eine Tatsache zeigt uns, welche intensive Wirkung die Narkose auf den Gang der wichtigsten Lebensprozesse in der Zelle ausübt, indem dieselbe deren normalen planmäßigen Verlauf stört: im gegebenen Fall äußert sich diese Störung darin, daß der bei der normalen Karyokinese streng determinierte Moment der Zentrosomenteilung vor der Bildung einer neuen Spindel hier nicht konstant Platz findet, oder aber vielleicht sich neue Zentrosomen bilden, gleich deren Entstehung in den sich parthenogenetisch entwickelnden Eiern. Zugunsten der letzten Möglichkeit könnte vielleicht das Vorhandensein einzelner mit der karyokinetischen Figur nicht zusammenhängende

¹⁾ Es werden natürlich bei längerer Narkosewirkung auch viel größere Zentrosomenzahlen angetroffen, die aber genauer Zählung zu schwer zugänglich sind und viele Fehlerquellen darbieten.

Strahlungen sprechen. Was die Zentrosomenzahl anbetrifft, so kann man keine Gesetzmäßigkeit bzw. Abhängigkeit von der Alkoholkonzentration oder der Wirkungsdauer der Narkose feststellen; vielmehr äußert sich der Charakter der Zufälligkeit bzw. des Einflusses gewisser unserer Beobachtung entgehender individueller Besonderheiten einzelner Eier.

Die Anordnung der Spindeln zwischen den Zentrosomen stellt ein verwickeltes Bild dar, welches ebenfalls in keinem der aufgezählten Verhältnisse seine Erklärung findet. Wir finden in der Tabelle II, daß deren Gesamtzahl zwischen 15 und 53 variiert (15, 22, 26, 31, 37, 51, 53) dabei schwankt die Menge der zu einem Zentrosoma gehörenden Spindeln zwischen 1 und 7, was ebenfalls den Eindruck der Zufälligkeit macht. Sowohl die Menge der Chromosomen, wie deren Verteilung auf verschiedenen Spindeln und deren Schicksal in dem karyokinetischen Prozeß zeigen ebenfalls vollkommene Gesetzlosigkeit. Auf den Schnittserien von 3—4 μ Dicke, welche mit Eisenhämatoxylin gefärbt und sehr scharf differenziert wurden, konnte man bei der Ölimmersion $\frac{1}{12}$ mit Hilfe des Zeichenapparates jede Chromosome in ihrer genauen Lage auf der entsprechenden Spindel abzeichnen und bei der Zählung identifizieren; eventuelle Fehler auf 2—3 Chromosomen üben keinen störenden Einfluß auf die Schlußresultate aus.

Die gesamte Chromosomenzahl in den Monosyncytien mit multipolaren Mitosen bietet bedeutende Verschiedenheiten in den Eiern einer und derselben Portion (Tabelle II): so z. B. finden wir nach 5 Stunden langer Wirkung von 2½%igem Alkohol in einem Ei deren 310, in einem anderen 133; manchmal erscheint der Zahlenunterschied weniger groß: nach 5 Std. 40 Min. langem Verweilen in 3%igem Alkohol schwankt die Chromosomenmenge zwischen 236 und 262 usw. Dabei zeigt deren Zahl keine Abhängigkeit sowohl von der Zentrosomenzahl wie von der Gesamtmenge der Spindeln oder von der Dauer der Narkosewirkung (nach 5 Std. 236 und 262, nach 4 Std. 20 Min. 133 und 310, nach 7 Std. 132 und 146). Die Zahl der auf den einzelnen Spindeln verteilten Chromosomen unterliegt bedeutenden Schwankungen — zwischen 1 und 24 in der Metaphase und bietet folgende Ziffern dar: 1, 2, 3, 4, 5, 7, 8, 9, 11, 16, 20, 24, was im Mittel 6, 7, 8 und 9 Chromosomen ausmacht. Es ist bemerkenswert daß in keinem einzigen Fall die Chromosomenzahl den für *Strongylocentrotus lividus* charakteristischen Wert 36 und äußerst selten 18 angetroffen wurde. Entsprechend den einzelnen Spindelpolen verteilen sich die Chromosomen folgendermaßen:

Auf dem Pole mit einer Spindel 4, 6, 10, 8, 5

„ „ „ „ zwei Spindeln 12, 13, 10, 8, 9, 9

„ „ „ „ drei „ 9, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16

| | |
|--------------------------------|------------------------|
| auf dem Pole mit vier Spindeln | 10, 13, 15, 16, 18, 19 |
| „ „ „ „ fünf „ | 14, 20 |
| „ „ „ „ sieben „ | 24 Chromosomen. |

Wie aus den dargelegten Zahlen ersichtlich, bietet diese Verteilung rein zufälligen Charakter dar, so daß irgendeine Gesetzmäßigkeit festzustellen nicht möglich erscheint: gerade Zahlen wechseln mit ungeraden ab, große mit den kleinen; dabei aber erhalten die mehrspindeligen Pole im allgemeinen größere Mengen Chromosomen, wodurch auch der Unterschied in den Dimensionen der Ruhekerne erklärt wird, den wir früher nachgewiesen haben (*Boveri*). Doch finden wir auch in dieser Hinsicht keine strenge Proportionalität: so z. B. gehören 14 Chromosomen zu den Polen mit 3 und 5 Spindeln; 13 Chromosomen zu 2- und 4spindeligen Polen und 10 Chromosomen zu 1-, 2-

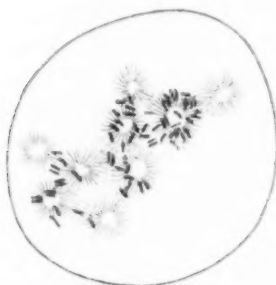


Abb. 6.

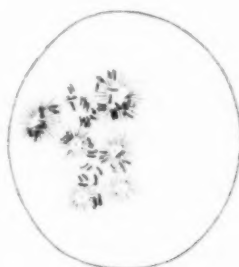


Abb. 7.

Abb. 6 und 7 stellen Teile von zwei mehrpoligen Mitosen im Stadium der Metaphase dar. Während ein Teil der Chromosomen sich regelrecht der Länge nach spaltet, bleiben andere ungeteilt und wandern so nach den Polen hin — es findet eine Umgruppierung der Chromosomen statt (in 3%igem Alkohol 5 Std., 40 Min. nach der Befruchtung). (Das gleiche in Abb. 5.)

3- und 4spindeligen Polen. Vergleichen wir diese Zahlen untereinander, so sehen wir, daß die Mengen der an den mehrspindeligen Polen angeordneten Chromosomen weder durch 4 noch 5, 6 und 8 teilbar sind, d. h. durch die Zahl der auf den einspindeligen Polen sich befindenden Chromosomen, und daß demgegenüber die Chromosomenzahl durch die Spindelzahl nicht bestimmt wird, wie es stattfinden würde, wenn der Prozeß der Metakinese gesetzmäßig vor sich gegangen wäre. Zur Erläuterung dieser unerwarteten Verteilungsart der Chromosomen unternahm ich eine genaue Untersuchung der Meta- und Anaphasen mit der Zählung der Chromosomen in den Mutter- bzw. den Tochtersternen. Das erhaltene Resultat erschien sowohl erstaunlich wie unerwartet: wie aus den Abb. 6 und 7 ersichtlich, spalten sich die auf dem Äquator der Spindel gelagerten Chromosomen nur teilweise der Länge nach, während ein gewisser Prozentsatz ohne jede Spaltung an den einen oder den anderen Pol sich begibt; es findet

also eine *Umgruppierung* der Chromosomen statt, wobei die Tochtersterne nicht die ursprüngliche Chromosomenzahl, sondern deren *reduzierte* und zwar häufig *nicht gleiche* Menge erhalten. Durch genaue Chromosomenzählungen auf dem Stadium der Anaphase wurden folgende Zahlen festgestellt: 3 und 4, 4 und 5, 3 und 5, 4 und 6, 2 und 3, 2 und 4, 6 und 7, 3 und 7 usw., im Mittel 3—7 Chromosomen in einem Tochterstern (Abb. 8), während im Stadium der Metaphase die Äquatorialplatte deren 6—14 und mehr beträgt in den Eiern, welche der Narkosewirkung während 5—6 Stunden unterworfen waren. Wir sehen nun, daß unter der mehr oder weniger langen (4 Std. 20 Min. bis 7 Std.) Einwirkung der Alkohalnarkose ($2\frac{1}{2}$ —3%) eine nachweisbare und nicht unbedeutende Störung der normalen Karyokinese in deren wesentlichsten Zügen stattfindet: letztere nimmt beinahe pathologischen Charakter an, welcher mit unserer Vorstellung von der indirekten Kernteilung, als einem Mittel, die Chromatinsubstanz unter den Tochterkernen möglichst gleichartig zu verteilen, absolut nicht stimmt. Es ist bemerkenswert, daß die gesamte Chromosomenzahl der Tochterkerne in einigen Fällen im Vergleich mit dem Mutterkern nicht vermindert zu sein braucht, indem die an einen Pol anstoßenden Spindeln einen Teil ihrer Chromosomen dem neuen Kern abgeben, wodurch bis zu einem gewissen Grade die durch die Narkose bewirkte Störung des Teilungsprozesses ausgeglichen wird.

Diese sowohl quantitativ wie qualitativ inäquale Verteilung der Chromosomen in den Tochterkernen müßte allem Anschein nach die Entwicklung der betreffenden Eier zum Stillstand bringen, indem sie nicht den vollen Komplex der Chromosomen erhalten haben. In der Wirklichkeit aber setzen in der Regel solche Monosyncytien ihre Entwicklung ungestört weiter fort unter Vermehrung der Kernzahl, welche normales Aussehen beibehalten. Zuletzt fangen einige davon sich zu furchen an, indem der Furchungsprozeß im Anfange nach der atypischen Weise vor sich geht, um später sich immer mehr dem normalen Typus zu nähern; die Furchung kann sich bis zum Blastula- und sogar Gastrulastadium fortsetzen. Andere Eier aber verfallen dem Degenerationsprozeß, welcher sie früher oder später zum Absterben bringt.

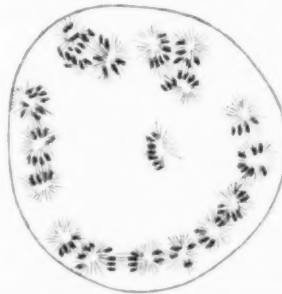


Abb. 8. Monosyncytium in dem Stadium der Anaphase: die Zahl der Chromosomen in den Tochtersternen erscheint reduziert und einander ungleich (in $2\frac{1}{2}$ %igem Alkohol 5 Std. 50 Min. nach der Befruchtung).

Ähnliche Resultate erhalten wir beim Übertragen der Monosyncytien auf dem Stadium von etwa 20—60 und mehr Kernen in frisches Seewasser, wobei dieselben sich von der Narkose rasch erholen, sich zu furchen anfangen und meist normal sich weiter entwickeln. Möglicherweise wird sich das Resultat der abnormen Chromosomenverteilung, ähnlich wie in den dispermen Eiern von *Boveri*, nur auf späteren Entwicklungsstadien in der Periode der Differenzierung und Verteilung verschiedener Potenzen auf einzelne Zellen äußern. Sämtliche dargelegte Tatsachen wurden auf Grund der Untersuchung von Eiern aus verschiedenen Versuchen nach ungleich langer Narkosewirkung (4 Std. 20 Min. bis 7 Std.) erhalten. Wie früh dieselbe im Sinne der Entstehung pathologischer Mitosen eintritt, konnte ich infolge des Zugrundegehens der entsprechenden Präparate von den frühen Entwicklungsstadien der narkotisierten Eier nicht feststellen. Jedenfalls finden wir schon nach 3 Std. 40 Min. bedeutend reduzierte Chromosomenzahlen: in der Metaphase 6—14 und in der Anaphase 6—10; folglich geschah die erste Umgruppierung viel früher, vielleicht schon in der ersten Periode der Narkoseeinwirkung.

Wie sind nun die beschriebenen Tatsachen zu erläutern? Stellen multipolare Mitosen in den Monosyncytien das Resultat einer vermehrten Tendenz der Kerne zur Teilung bzw. eine Hyperproduktion der Mitosen dar, oder aber erscheinen dieselben als eine Folge der hemmenden und paralysierenden Wirkung der Narkose, welche auch den syncytialen Zustand bewirkt? Bei dem Vergleich der Monosyncytien mit den gleichalten Kontrolleiern bemerken wir, daß die Zahl der Blastomeren in den letzteren die Kernmenge in den ersteren bedeutend übertrifft, was auf das Zurückbleiben der Monosyncytien in der Entwicklung hinweist. Die Ursache dazu kann entweder die Verlangsamung des Kernteilungsprozesses mit der Bildung von multipolaren Mitosen sein, oder die Verlängerung der Intervalle zwischen je zwei nacheinander folgenden Teilungen oder beides zusammen.

In der Tabelle III sind die Vergleichsdaten der Entwicklung normaler und syncytialer Eier dargelegt, aus denen ersichtlich ist, daß die Narkose ihre hemmende Wirkung gleich im Anfange äußert, indem schon die erste Kernteilung von der Kontrolle im $2\frac{1}{2}\%$ igen Alkohol im Mittel um 43 Minuten und im 3%igen um 65 Minuten verspätet wird. Dann hält die Entwicklung bis zum 16-Kernenstadium ungefähr den gleichen Schritt mit der Kontrolle, von wo an der Teilungsrhythmus sich stark verlangsamt, so daß auf dem 64-kernigen Stadium das Ei der Kontrolle gegenüber um 1 Std. 50 Min. im $2\frac{1}{2}\%$ igen und um 3 Std. im 3%igen Alkohol zurückbleibt.

Allem Anschein nach erreicht zu dieser Zeit (16-Kernenstadium) die durch die Narkose bewirkte Unterdrückung der motorischen Funk-

Tabelle III.

| Normale Entwicklung | | | | | 2½% Alkohol | | | | | 3% Alkohol | | | | |
|--------------------------|-------------|-------------|---------------|-----------|---------------------------|-------------|-------------|---------------|-----------|-------------------|-------------|---------------|-----------|--|
| Entwicklungs- stadium | Minimalzeit | Maximalzeit | mittlere Zeit | Differenz | Entwicklungs- stadium | Minimalzeit | Maximalzeit | mittlere Zeit | Differenz | Minimalzeit | Maximalzeit | mittlere Zeit | Differenz | |
| 2 Zellen | 105 | 145 | 125 | | 2 Kerne | 145 | 230 | 208 | | 230 | | 230 | 120 | |
| 4 " | 20 | 240 | 220 | 55 | 4 " | 245 | 320 | 302 | 54 | 350 | | 350 | 50 | |
| 8 " | 240 | 350 | 305 | 45 | 8 " | 315 | 340 | 330 | 28 | 40 | 530 | 440 | 50 | |
| 16 " | 30 | 430 | 345 | 40 | 16 " | 345 | 530 | 440 | 50 | 450 | 630 | 535 | 55 | |
| 32 " | 340 | 530 | 435 | 50 | 32 " | 530 | 70 | 615 | 135 | 645 | 90 | 730 | 20 | |
| 64 " | 520 | 60 | 540 | 65 | 64 " | 60 | 90 | 730 | 115 | | | 840 | 154 | |
| 128 " | 530 | 745 | 635 | 55 | Verspätung 1 Std. 50 Min. | | | | | Verspätung 3 Std. | | | | |
| unbewegl. Blastula | 8 | 940 | 850 | 215 | | | | | | | | | | |
| bewegl. Blastula | 815 | 10 | 910 | | | | | | | | | | | |
| junge Ga- strula | 24 | | 24 | | | | | | | | | | | |
| Pluteus | 72 | | 72 | | | | | | | | | | | |

tionen des Protoplasma den höchsten Grad, was zur Bildung von mehrpoligen Mitosen führt, deren sämtliche Phasen dank ihrer Kompliziertheit mit Verspätung verlaufen. Das Protoplasma der

narkotisierten Eier scheint eine träge Masse darzustellen, welche unter dem Einfluß des in den Kernen vor sich gehenden Teilungsprozesses nur schwer in Bewegung gesetzt wird. Auf Grund des Gesagten scheint es mir berechtigt, auf die erste von uns gestellte Frage, betreffend das Wesen der Narkosewirkung auf die Zelle, bejahend zu antworten: mehr oder weniger lang dauernde Narkose übt auf die wichtigsten Lebensfunktionen der Zelle ihre Wirkung aus, indem sie in derselben eine ganze Reihe von tiefgreifenden Veränderungen hervorruft, die unserer Untersuchung zugänglich sind und sich vor allem in der Störung des normalen karyokinetischen Prozesses äußern, sowohl im Sinne des Rhythmus wie auch im Verhältnis zu dem Schicksal sämtlicher in demselben mitspielender Teile des Protoplasmas und des Kernes: Zentrosome, Spindeln und Chromosomen. Eine solche Abweichung von der Norm ist eine Folge der durch die Narkose bewirkten Unterdrückung der motorischen Funktionen des Protoplasma; außerdem läßt die außerordentliche Gesetzlosigkeit in den polyzentrischen Mitosen darauf schließen, daß bei der Narkose die regulierenden Prozesse im Ei durch die Paralyse eines demselben eigenen, aber nicht näher definierbaren Regulationsapparates gestört werden.

V. Die Bildung von großen gelappten Kernen II. Art.

Der soeben beschriebene atypische Verlauf der Karyokinese nimmt in manchen Eiern einen noch mehr von der Norm abweichenden

Charakter an, indem außer den aufgezählten Anomalien in denselben noch eine Störung des den Syncytien eigenen Synchronismus auftritt. Es handelt sich dabei um Eier mit zentralgelagerten multipolaren

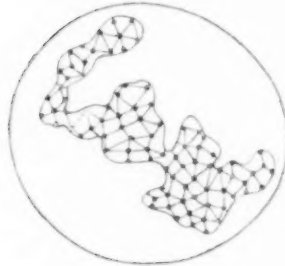


Abb. 9.

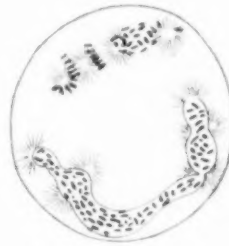


Abb. 10.

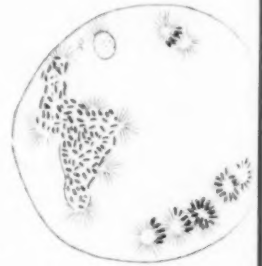


Abb. 11.

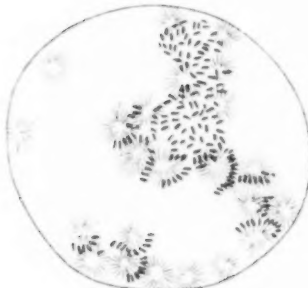


Abb. 12.



Abb. 13.

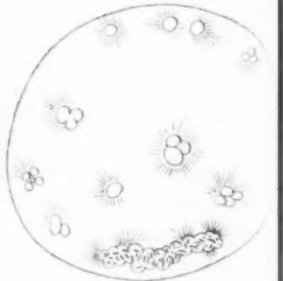


Abb. 14.



Abb. 15.

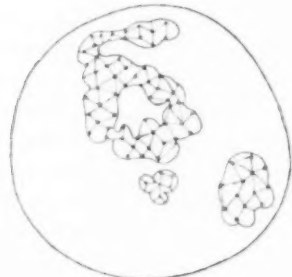


Abb. 16.

Abb. 9–16. Entstehung der großen Kerne II. Art aus den zentralen mehrpoligen Mitosen.
Störung des Synchronismus der Kernteilungsphasen.
(In 2½- und 3%igen Alkohollösungen 5 Std. 40 Min. bis 6 Std. 50 Min. nach der Befruchtung.)

Mitosen. Die Karyokinese nimmt hier äußerst unregelmäßigen Charakter an: die mitotische Figur stellt große Verschiedenheit der Form dar, sowohl im Verhältnis zu der Zahl und Lagerung der Zentrosomen und Spindeln, wie auch zu der Verteilung der Chromosomen, deren

Gesamtzahl in ziemlich weiten Grenzen (141, 187, 174 usw.) variiert und deren Mengen auf einzelnen Spindeln sehr ungleich sind (5, 7, 8, 9, 13, 15 usw.). In manchen Fällen kann man überhaupt nicht unterscheiden, welcher Spindel die eine oder die andere Chromosomengruppe angehört, da dieselben ohne jede Regelmäßigkeit im Haufen zwischen 4—6 und mehr Strahlungen liegen, ohne an die bestimmten Spindeln gebunden zu sein (Abb. 12). Zu gleicher Zeit findet man noch im Bereich derselben karyokinetischen Figur auch deren normale Verteilung auf den entsprechenden Spindeln. In anderen Fällen stellt fast die gesamte polyzentrische Mitose eine solche regellose Chromosomenanhäufung dar, und nur deren Endspindeln bzw. gesonderte Mitosen weisen einen der Norm sich nähernden Charakter auf. Als eine zweite Eigentümlichkeit der zentralen mehrpoligen Mitosen, welche dieselben von den früher beschriebenen unterscheidet, erscheint das Fehlen des den Syncytien eigenen Synchronismus deren Phasen. Wir treffen häufig Eier, in denen ein Teil des Kernes bzw. der Kerne noch im Stadium der Prophase sich befindet, dessen Kernmembran noch erhalten und dessen Chromatin in Form von kleinen Stäbchen darin gelagert ist; gewöhnlich ist ein solcher Kern von zahlreichen Strahlungen umgeben (Abb. 10 u. 11). Daneben — eine 3—4 polige Mitose: in einem Teil derselben hat sich die Kernmembran aufgelöst und die Chromosomen liegen frei zwischen den Zentrosomen — Diakinesestadium. In der anderen Hälfte haben sich gut ausgesprochene Spindeln mit äquatorial gelagerten Chromosomen gebildet — Metaphase. Es macht den Eindruck, als ob gesondert liegende Spindeln bzw. Spindelgruppen sich durch größere Beweglichkeit auszeichnen und die Hauptmasse der polyzentrischen Mitose im Teilungstempo überreichen, während letztere infolge ihrer komplizierten Konstruktion und festen Zusammenhanges der Spindeln untereinander viel geringere Beweglichkeit zu besitzen scheint. Diese Tatsache läßt darauf schließen, daß die gesamte mitotische Figur eher als eine feste fädige Bildung und nicht als ein Resultat von Protoplasmaströmungen anzusehen ist.

Im Laufe der Anaphase (Abb. 13) gleicht sich die Synchronismusstörung wieder aus und der gesamte Kern tritt in das Stadium der Telophase ein, während welcher wiederum eine Beschleunigung des Teilungsprozesses des einen Kernabschnittes gegenüber den anderen stattfindet: in den einen Tochtersternen erscheinen die Chromosomen in Form von kleinen Stäbchen, während sie in den anderen schon vakuolisiert sind und in Form von kleinen hellen Bläschen erscheinen (Abb. 13). Dabei kann man sowohl deren ungleichmäßige Verteilung an die Spindelpole wie auch deren verschiedene Menge in den den mehrspindeligen Polen entsprechenden Tochterkernen beobachten. Am Ende der Telophase vakuolisieren sich sämtliche Chromosomen (Abb. 14 u. 15)

und bilden mehrere kleinere oder einen enormen unregelmäßig-gelappten Kern, welcher sich mit einer Membran umgibt und einen hellen Kernsaft und ein dichtes Chromatinnetz einschließt; diese Kerne nehmen den größten Teil des ganzen Eiterritoriums ein und stellen *große Kerne II. Art* dar (Abb. 9 u. 16). Bei der folgenden Teilung eines solchen Kernes bildet sich wieder die komplizierte polyzentrische Mitose, welche atypisch mit allen beschriebenen Eigentümlichkeiten verläuft. Wie lange diese Kerne ihre Teilungsfähigkeit beibehalten ist schwer zu sagen; aus den in der Tabelle I angeführten Zählungen sahen wir, daß im Laufe der Zeit ein Teil solcher Eier sich in dem Maße an die Narkose anpaßt, daß sie sich zu furchen anfangen, während ein anderer Teil allem Anschein nach der Degeneration verfällt und abstirbt. Möglicherweise hängt das so verschiedene Schicksal dieser Eier mit der größeren oder geringeren Unterdrückung der Regulationsprozesse im Ei zusammen, wodurch der pathologische Charakter der Karyokinese mit abnormem »Chromosomensatz« in einzelnen Kernen oder deren von der Norm abweichende Verteilung in einem großen Kern bedingt wird. Andererseits spielt dabei zweifellos auch die verschiedene Empfänglichkeit einzelner Eier zu der Narkose eine Rolle, deren Ursache in den Verschiedenheiten der inneren Organisation der Eier zu suchen ist.

Die eben beschriebenen Eigentümlichkeiten der Karyokinese, die an der Grenze des Pathologischen stehen, müssen als eine Folge einer tieferen Narkose angesehen werden, als in den Eiern mit peripheren Monosyncytien, denn hier erreicht die Regellosigkeit des Prozesses ihren höchsten Grad: von der gewöhnlichen Gesetzmäßigkeit dieses streng determinierten Prozesses ist keine Spur nachgeblieben; die Regelmäßigkeit der Phasen, die sich in streng koordinierten Bewegungen und gesetzmäßiger Anordnung der Zellorgane: Zentrosomen, Chromosomen, Teilungsspindel — äußert, ist im Grunde gestört; im Verhältnis zu der Zahl bzw. Lagerung der Zentrosomen, Spindeln und Chromosomen überwiegt der Einfluß des Zufalls; endlich unterliegt auch die letzte, von der Störung noch nicht betroffene Funktion des regulierenden Apparates, welche den Teilungsrythmus bedingt und sich in dem Synchronismus der Teilungsphasen äußert, einer Unterdrückung durch die Narkose, wodurch die oben beschriebene Regellosigkeit des Bildes bewirkt wird.

VI. Die Furchung der Monosyncytien.

Wie oben angedeutet, erreichen die einer verlängerten Wirkung der Narkose unterworfenen Seeigelleier ziemlich späte Entwicklungsstadien, indem sie ihre Syncytiumform mit einer großen Zahl der Kerne beibehalten; wir zählten 70 und mehr Kerne in den Eiern

6—7 Stunden nach der Befruchtung und nach 5—6 stündigem Verweilen in $2\frac{1}{2}$ —3% alkoholischer Lösung. Zu dieser Zeit hat sich in den Kontrolleiern schon längst ein Blastocoel gebildet, während in den Monosyncytien keine Andeutung daran zu sehen ist. Im Laufe des Verweilens der Eier in den erwähnten Alkohollösungen finden wir unter den syncytialen Eiern immer mehr gefurchte Eier auf, welche teils normal aussehende Embryonen darstellen, größtenteils aber durch eine Reihe von Eigentümlichkeiten davon abweichen. Je schwächer die Konzentration, desto größere Zahl der Eier werden gefurcht; mit der steigenden Konzentration wird die Teilung angehalten und man findet immer zahlreichere Degenerationsformen. Bei der Untersuchung der sich teilenden Monosyncytien stieß ich immer auf folgende Bilder (Abb. 17, 18 und folgende); der größte Teil des Eies ist von dem Monosyncytium mit einer verschiedenen Kernzahl im Ruhe- oder Teilungsstadium mit peripherischen oder zentralen mehrpoligen Mitosen eingenommen; daneben finden sich an der Eioberfläche 2, 4 oder mehr abgesonderte Blastomeren mit je einem oder mehreren Kernen (Abb. 19). In anderen Fällen sind die von dem Muttersyncytium sich abgetrennten Zellen in der Zahl von 10—15—20 entweder um denselben herum in Form eines Ringes gelagert, oder auf einem Pole desselben in einem Haufen angesammelt (Abb. 21 u. 23). Im folgenden vermehrt sich die Blastomerenzahl auf Kosten des Muttersyncytiums, von welchem bald nur ein kleiner Abschnitt übrig bleibt (Abb. 23), der nur wenig Kerne einschließt. Schließlich zerfällt auch dieser Rest des Syncytiums in einzelne Blastomeren, und der ganze Keim erscheint aus größerer oder geringerer Zellenzahl zusammengesetzt, die sich von den normalen Blastomeren sowohl durch ihre verschiedene Größe bzw. Form, wie auch durch die Größe der darin enthaltenen Kerne unterscheiden (Abb. 24).

Bei sorgfältiger Musterung solcher Eier auf Schnittserien gelang es mir den Furchungsverlauf der Monosyncytien mit allen seinen Eigentümlichkeiten in exakter Weise zu untersuchen, wobei ich zu folgenden Resultaten gekommen bin. Unter der Einwirkung irgendwelcher, der genauen Interpretation noch eingehender und weiterer Untersuchung harrender Ursachen, beginnen sich während der Karyokinese des mehrkernigen Syncytiums um die peripherisch gelagerten Tochterkerne im Stadium der späten Anaphase kleine Protoplasmaabschnitte abzugrenzen, indem dieselben einen Tochterstern von allen Seiten umgeben, während der andere im Syncytium liegen bleibt (Abb. 21 u. 23); manchmal schnürt sich auf diese Weise eine ganze Kette von peripherischen Blastomeren ab, welche voneinander schon durch Scheidewände getrennt sind, unter sich aber und mit dem Muttersyncytium durch gut sichtbare Spindeln noch zusammenhängen (Abb. 23); nach der defini-

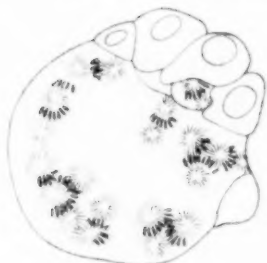


Abb. 17.

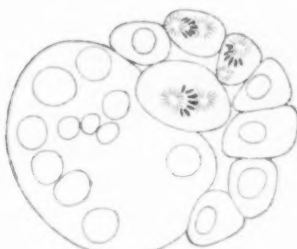


Abb. 18.

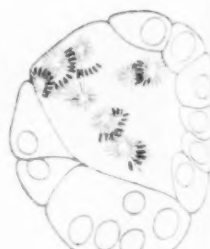


Abb. 19.

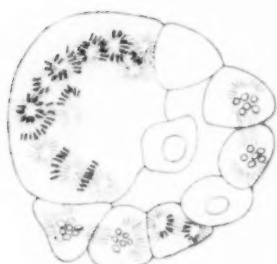


Abb. 20.



Abb. 21.

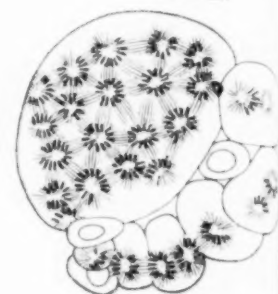


Abb. 22.

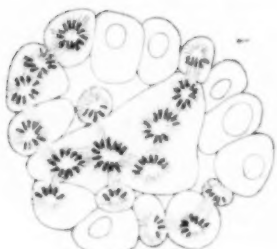


Abb. 23.

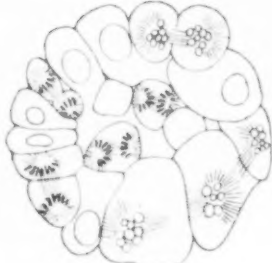


Abb. 24.

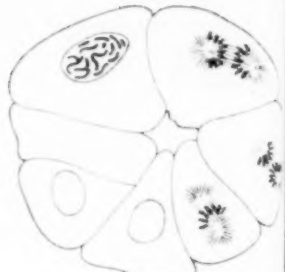


Abb. 25.



Abb. 26.

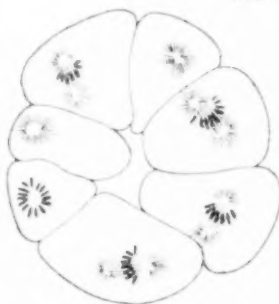


Abb. 27.

Abb. 17–27. Furchungsstadien der Monosyncytien, illustrierend die allmähliche Abgrenzung einzelner Blastomeren mittels der Karyokinese von dem Muttersyncytium. In den Abb. 17, 20, 22, 23 und 24 ist die Entstehung des Blastocoels durch die periphere Anordnung der Zellen dargestellt (6 Stunden in $2\frac{1}{2}\%$ iger Alkohollösung). Abb. 26–27 stellen Eier dar, die sich auf frühem Syncytialstadium geteilt haben und in denen schon eine Erholung des Regulierungsapparates von der Narkose zu sehen ist (3 Std. 40 Min. in $2\frac{1}{2}\%$ iger Alkohollösung).

tiven Abgrenzung der Blastomeren kommen die Kerne in das Ruhestadium. Bei der folgenden Teilung werden gewöhnlich wieder einige Blastomeren abgeschnürt usw., bis das ganze Syncytium erschöpft ist. Die neu entstandenen Blastomeren unterscheiden sich zunächst nach der Form, Größe und Zahl der darin eingeschlossenen Kerne, wobei schon bei oberflächlicher Untersuchung der Präparate klar wird, daß das Gesetz der Kernplasmarelation hier meistens durchgeführt wird: größeren Kernen entsprechen meistens auch größere Plasmateritorien (Abb. 17, 22, 24); die Ungleichheit der Kerne findet allem Anschein nach darin ihre Erklärung, daß bei den mehrpoligen Mitosen die Tochterkerne sehr oft ungleiche Chromosomenzahlen erhalten, wodurch die Kerne mit größerer Chromosomenzahl größere Dimensionen aufweisen, als diejenigen mit deren geringerer Menge; dadurch wird das *Boveri'sche* Gesetz von der Proportionalität der Kernoberfläche der Zahl darin enthaltener Chromosomen vollkommen bestätigt. Daß dabei auch in der Tat eine ungleiche Chromosomenverteilung stattfindet, wird aus der Tabelle IV ersichtlich.

Tabelle IV.

Furchungsstadien, aus den Monosyncytien entstanden, die in $2\frac{1}{2}\%$ iger Alkohollösung während 6 Stunden sich entwickelten und das Bild der atypischen Furchung darstellen.

| Verzahnnummer | Zeit nach der Befruchtung | Dauer der Alkoholeinwirkung | Alkoholkonzentration | Zahl der Zentren | Zahl der Spindeln | Gesamtzahl der Chromosomen | Metaphase | | | Anaphase | | | Das Verhältnis der Met. zur Anaphase | Gesamtzahl der Blastomeren | Blastomeren im Teilungsstadium |
|---------------|---------------------------|-----------------------------|----------------------|------------------|-------------------|----------------------------|-----------|---------|------------|----------|---------|------------|--------------------------------------|----------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | Maximum | Minimum | Mittelwert | Maximum | Minimum | Mittelwert | | | |
| 43 | 6 ³⁰ | 6 ⁰ | $2\frac{1}{2}\%$ | 21 | 33 | 303 | 7 | 7 | 7 | 6 | 2 | 4 | 1,7 | 14 | 2 |
| " | " | " | " | 18 | 23 | 183 | 14 | 14 | 14 | 6 | 2 | 5 | 2,8 | 11 | 2 |
| " | " | " | " | 16 | 15 | 97 | 13 | 13 | 13 | 8 | 2 | 3 | 4,0 | 17 | 3 |
| " | " | " | " | 28 | 44 | 269 | 6 | 6 | 6 | 7 | 2 | 6 | 1,0 | 10 | 7 |
| " | " | " | " | 12 | 6 | 59 | 10 | 6 | 8 | 7 | 6 | 7 | 1,1 | 15 | 6 |
| " | " | " | " | 14 | 7 | 75 | 16 | 6 | 11 | — | — | 5 | — | 13 | 7 |
| " | " | " | " | 10 | 5 | 35 | 8 | 6 | 7 | — | — | — | — | 15 | 5 |
| " | " | " | " | 8 | 4 | 32 | 9 | 6 | 8 | — | — | — | — | 7 | 4 |
| " | " | " | " | 6 | 3 | 30 | 14 | 8 | 10 | — | — | — | — | 5 | 3 |
| " | " | " | " | 6 | 3 | 22 | 8 | 7 | 7 | — | — | — | — | 9 | 3 |
| " | " | " | " | 5 | 3 | 27 | 11 | 8 | 9 | — | — | — | — | 5 | 2 |
| | | | | | | | | | 9 | | | | 1,8 | | |

Als eine weitere Eigentümlichkeit der Monosyncytienfurchung erscheint die Störung des normal streng durchgeführten Synchronismus der Phasen in den Kernen der abgetrennten Blastomeren: während im Reste des Muttersyncytiums sämtliche Kerne ein und dasselbe

Ruhe- oder Teilungsstadium darstellen, konstatieren wir in den Blastomeren keine Gesetzmäßigkeit der Stadien; in den einen finden wir das Ruhestadium, in den anderen benachbarten die Ana- oder Telophase, während in den dritten Pro- oder Metaphase zu sehen ist (Abb. 18, 20 und folgende). Dabei scheint keine sichtbare Abhängigkeit der Blastomeren voneinander zu existieren; im Gegenteil erreicht jede von dem Muttersyncytium sich abgesonderte Blastomere vollkommene Selbständigkeit, indem sie jeden funktionellen Zusammenhang mit den übrigen in viel größerem Grade einbüßt, als es unter normalen Verhältnissen der Fall ist, wo in den entsprechenden Entwicklungsstadien (32, 64 und mehr Zellen) noch vollkommener Synchronismus in sämtlichen Zellen besteht. Es macht den Eindruck, als ob in narkotisierten Eiern die Tätigkeit irgendeines Regulierungsapparates gestört wird, welcher im normalen Ei aus dem Komplexen sich gebildeter Blastomeren einen einheitlichen Organismus schafft, dessen sämtliche Teile während einer bestimmten Zeit einen und denselben koordinierten und streng determinierten Entwicklungszyklus durchmachen. In narkotisierten Eiern befindet sich dieser Regulierungsapparat im Zustande der Depression und das Ei macht eher den Eindruck eines Konglomerates der Zellen, die keinen funktionellen Zusammenhang untereinander zeigen und soweit es deren Teilungsfähigkeit anbelangt, vollkommen unabhängiges Leben führen (Abb. 24).

Von dem Moment an, wenn sich aus dem Syncytium einige Zellen abgetrennt haben, fängt zwischen den Blastomeren und dem Muttersyncytium die Blastocoelhöhle sich zu bilden an in Form eines engen Spaltes, durch welchen die Blastomeren von demselben peripherisch abgeschoben und um die erstere in einer Schicht gelagert werden (Abb. 17, 18, 20). Die später sich absondernden Blastomeren liegen zunächst im Blastocoelinneren und werden allmählich an die Oberfläche verschoben (Abb. 18, 20, 21, 24). Die abgetrennten Blastomeren kommen in den Ruhezustand, um darauf wieder in folgende Teilung einzutreten, wobei bei jeder neuen Furchung sich die in den polyzentrischen Mitosen beobachtete Regellosigkeit mit jeder neuen Karyokinese allmählich auszugleichen beginnt. Es werden immer häufiger zweipolige Spindeln gebildet, die Chromosomen unterliegen zum großen Teil der Längsspaltung, so daß an die Pole gleiche oder nur wenig voneinander abweichende Mengen derselben (5—5, 5—4, 4—4, 10—8, 5—6, 7—7 usw.), gelangen, indem ein immer geringerer Prozentsatz umgruppiert wird (Abb. 22, 23). In späteren Stadien nehmen die Kerne immer mehr gleichartige Dimensionen an und die Furchung nähert sich der normalen.

In der Tabelle IV sind die Angabe der Zählung von Zentrosomen, Chromosomen und Spindeln in den karyokinetischen Figuren sowohl

der abgesonderten Blastomeren wie des Muttersyncytiums angeführt, wobei in manchen Eiern schon eine Regelung des Teilungsprozesses konstatierbar ist, die sich in der Annäherung der Chromosomenzahl in dem Tochter- und dem Muttersterne (6 und 6, 8 und 7) äußert, was auf die Chromosomenspaltung hinweist. Doch auch hier kommt noch ein sehr buntes Bild zur Beobachtung, welches auf das Vorwiegen der Zufälligkeit über die Gesetzmäßigkeit in betreff der Zahl und Anordnung der Zentrosomen, Spindeln und Chromosomen schließen läßt. Bei der Untersuchung der sich auf frühen Stadien gefurchten Monosyncytien, deren Blastomeren schon wiederholte Teilungen erlitten haben, finden wir darin vereinzelte bipolare Mitosen von normalem Aussehen mit den auf dem Äquator liegenden geringen Chromosomenzahlen (6—16) und mit Tochtersternen, deren Chromosomenmengen entweder gleich groß oder wenig abweichend vom Muttersterne sind (Abb. 25, 26, 27) (7 und 7, 6—7, 8—10, 7—10, 8—13). Detaillierte Angaben über solche Eier sind auch in der Tabelle V dargestellt, in der die Zählungsergebnisse von 8 gefurchten Eiern zusammengestellt sind, aus welchen ersichtlich ist, daß die Mittelzahlen der Chromosomen sich in den Mutter- und Tochtersternen nur wenig voneinander unterscheiden.

Tabelle V.

Gefurchte, aus einem nach Verweilen in 2 $\frac{1}{2}$ %iger Alkohollösung gebildeten Syncytium entstandene Eier.

| Versuchsnummer | Gesamte Blastomerenzahl | Blastomeren mit Mitosen | Zahl der Zentrosomen | Zahl der Spindeln | Gesamtzahl der Chromosomen | Metaphase | | | Anaphase | | | Verhältnis der Metaphase zur Anaphase |
|----------------|-------------------------|-------------------------|----------------------|-------------------|----------------------------|-----------|---------|------------|----------|---------|------------|---------------------------------------|
| | | | | | | Maximum | Minimum | Mittelwert | Maximum | Minimum | Mittelwert | |
| 1 | 7 | 2 | 4 | 2 | 35 | 14 | 14 | 14 | 13 | 8 | 10 | 1,4 |
| " | 7 | 5 | 10 | 5 | 41 | 6 | 10 | 8 | — | — | — | — |
| " | 4 | 4 | 8 | 4 | 30 | 6 | 10 | 8 | — | — | — | — |
| " | 7 | 7 | 14 | 7 | 64 | 6 | 9 | 7 | 6 | 10 | 7 | 1,0 |
| " | 7 | 3 | 6 | 3 | 39 | 7 | 7 | 7 | 7 | 10 | 8 | 0,9 |
| " | 10 | 3 | 6 | 3 | 18 | 5 | 7 | 6 | — | — | — | — |
| " | 8 | 2 | 4 | 2 | 19 | 7 | 7 | 7 | 6 | 6 | 6 | 1,1 |
| " | 7 | 5 | 10 | 5 | 47 | 6 | 16 | 9 | — | — | — | — |

Alle beschriebenen Tatsachen überzeugen uns von der Richtigkeit unserer Voraussetzung von der Unterdrückung durch die Narkose eines regulatorischen Apparates im Ei und der Wiederherstellung seiner Funktionen bei der Erholung der Eier von der Narkose. Als weiterer Beweis dafür kann die Tatsache dienen, daß Eier, welche eine mehr oder weniger lang dauernde Narkose überstanden haben und darauf in frisches Seewasser übertragen wurden, sich nach dem eben be-

beschriebenen Typus zu furchen beginnen: es entstehen an der Eioberfläche einzeln oder gruppenweise abgetrennte Blastomeren mit einem oder mehreren Kernen, bis sich das Muttersyncytium vollkommen in dieselben auflöst. Folglich fällt sowohl die Wiederherstellung der Bewegungsfähigkeit des Protoplasma, welche sich in dessen Teilung und Blastomerenbildung äußert, wie auch die Regulation des karyokinetischen Prozesses in denselben mit der Abschwächung der Narkosewirkung zusammen, unabhängig davon, ob dieselbe durch plötzliches Aufhören derselben durch das Übertragen der Eier in frisches Seewasser oder durch die Anpassung der letzteren an das alkoholische Medium bewirkt wird. Es ist bemerkenswert, daß zunächst die normalen Funktionen nur der peripheren Teile wiederhergestellt werden, während im Eizentrum noch lange Zeit die Verhältnisse des syncytialen Zustandes mit allen seinen Eigentümlichkeiten erhalten bleiben, was augenscheinlich mit dem fortdauernden Narkosezustand in demselben zusammenhängt.

Der syncytiale Zustand der Seeigeleier kann, wie es scheint, nicht ewig dauern. Unter dem Einfluß noch nicht näher zu präzisierender Gründe entsteht in denselben der Impuls zur Furchung, welche trotz der fortdauernden Narkosenwirkung eintritt. Als nächste Ursache dazu, welche das Moment des Eintretens der Furchung bestimmt, erscheint allem Anschein nach doch eine gewisse Abschwächung der Narkose, welche einerseits durch die Anpassung der Eier an dieselbe, andererseits auch durch wirkliche Verminderung der Konzentration durch teilweise Oxydation der durch die oberflächlichen Partien des Protoplasmas adsorbierten Alkoholteilchen bedingt wird. Die Grundursache aber, welche das Ei in einem bestimmten (aber nicht konstanten) Moment seiner Entwicklung zur Teilung zwingt, muß in den inneren, demselben inhärenten Eigenschaften liegen, welche eine temporäre Depression unter der Einwirkung der Narkose erlitten haben und bei deren Verminderung wieder an Intensität zunehmen.

Auf Grund sämtlicher oben dargelegter Tatsachen betreffend den Entwicklungsgang der Monosyncytien, welche mehrstündiger Alkohalnarkose unterworfen wurden, kommen wir zu folgenden Schlüssen:

1. Der gesamte Entwicklungszyklus geht mit einer bedeutenden Verlangsamung vor sich hin, welche progressiv zunimmt und der Alkoholkonzentration proportional ist.

2. Das erste ausgesprochene Narkosestadium äußert sich in der Paralyse der motorischen Funktionen des Protoplasma, welche die Teilungsfähigkeit einbüßt, als dessen Resultat die Monosyncytien entstehen.

3. Der Syncytialzustand des Eies erhält sich während mehrerer Stunden (8—9 und mehr), wobei die Kerne eine Reihe von Teilungen

durchmachen, bis endlich das Moment auftritt, wenn unter dem Einfluß der Abschwächung der Narkosewirkung oder der Anpassung der Eier an dieselbe die dadurch bewirkte Depression des Protoplasmas schwindet und dasselbe wieder die Fähigkeit, eine aktive Rolle bei den Teilungen zu spielen, erlangt.

4. Die Furchung erfolgt in atypischer Weise durch allmähliche Abgrenzung vermittels der Karyokinese je einer oder mehrerer Blastomeren von verschiedener Größe von dem mütterlichen Syncytium.

5. Das syncytiale Ei ist nicht imstande die Blastocoelhöhle zu bilden, indem das träge, paralyisierte, seiner Bewegungsfähigkeit beraubte Protoplasma die dazu nötige Umgruppierung seines Baumaterials nicht auszuführen vermag. Im normalen Ei wird diese Umlagerung der Protoplasamassen leicht bewirkt, dank deren Verteilung auf eine Menge von isolierten und der aktiven Bewegung fähigen Einheiten, welche von dem *Ganzen* durch Regulierung deren Bewegung und Teilung an den nötigen Ort gerichtet werden.

6. Soweit es sich um die Seeigel handelt, hängt die Formbildung des Embryo (Blastula, Gastrula, Pluteus) mit der Furchung zusammen, wodurch eine Umlagerung des Baumaterials erreicht wird; dieser Prozeß unterliegt einer strengen Regulation, welche durch die Narkose gestört und bei deren Abschwächung wieder hergestellt wird.

7. In dem sich entwickelnden Ei müssen wir das Vorhandensein eines regulierenden Apparates annehmen, dessen Funktionen normalerweise in einer strengen Regulation der Lebensprozesse der einzelnen Blastomeren, durch deren Koordination und Unterordnung derselben dem *Ganzen* sich äußern, wodurch eine gesetzmäßige Entwicklung des normalen Keimes gesichert wird. Unserer Beobachtung ist eine Seite dieser Regulation zugänglich, welche sich im Synchronismus der Ruhe- und Teilungsphasen in sämtlichen Blastomeren äußert, welcher bis zum Stadium von 64—128 Zellen noch gut zu sehen ist. Im narkotisierten Ei wird die Tätigkeit dieses Regulationsapparates in folgendem Sinne gestört:

- a) Die abgegrenzten Blastomeren verlieren ihren funktionellen Zusammenhang mit dem *Ganzen* und erreichen eine Unabhängigkeit, die sich in dem vollkommenen Fehlen des Synchronismus äußert.
- b) Die Depression des Regulierungsapparates äußert sich im Auftreten der zusammengesetzten mehrpoligen Mitosen und in der Störung des regelmäßigen Verlaufes der Karyokinese: zufällige Zahl der Zentrosomen und Spindeln, das Fehlen der Längsspaltung der Chromosomen, deren Umgruppierung und Reduzierung von deren Zahl in den Tochterkernen.
- c) Der Regulierungsapparat fährt noch in den Monosyncytien mit den peripherwärts gelagerten Mitosen bis zu einem gewissen

- Grade fort seine Funktionen auszuüben, wodurch der Synchronismus der Phasen in den mehrpoligen Mitosen bedingt wird.
- d) Im Laufe der Narkoseabschwächung wird im Zusammenhang mit der eintretenden Furchung des Eies, allmählich auch die Tätigkeit des regulierenden Apparates hergestellt: die Blastomeren bzw. deren Kerne gleichen sich in ihrer Größe und Form aus und lagern sich in einer Schicht an der Peripherie des Embryo, wie in der normalen Blastula; die Zahl der Chromosomen und deren Verteilung auf die Tochterkerne wird immer mehr konstant und der Synchronismus in sämtlichen Blastomeren wird allmählich wieder hergestellt.

8. Diejenigen Eier, welche eine langdauernde Narkose überstanden, sich an dieselbe angepaßt haben, und sich zu furchen anfangen, erscheinen der weiteren Entwicklung fähig und können in denselben alkoholischen Lösungen, wohin sie nach der Befruchtung gelegt wurden, das Stadium der Blastula, Gastrula und manchmal sogar des Pluteus erreichen. Dem Aussehen nach unterscheiden sie sich von den Kontrolleiern nicht, stehen ihnen aber in der Entwicklung bedeutend nach; in anderen Fällen bilden sich Stereoblastulae, die am Ende der Degeneration zerfallen und absterben.

Es liegt auf der Hand anzunehmen, daß eine der Ursachen des so verschiedenen Verhaltens einzelner Eier zu der Narkose die zufällige, äußerst ungleichmäßige Verteilung der Chromosomen auf die Tochterkerne zu betrachten ist, wobei die einzelnen Blastomeren nicht nur quantitativ sondern auch qualitativ unvollkommenen Chromosomenkomplex erhalten, was deren pathologische Entwicklung bedingt.

VII. Große Kerne I. Art.

Wie im II. Kapitel erwähnt wurde, finden sich unter den narkotisierten Eiern ungefurchte Exemplare mit vollkommen normalem Protoplasma und einem enorm großen Kerne, dessen Durchmesser denjenigen des normalen Eies um 2—3 mal übertrifft. Diese Kerne besitzen runde oder ovale Form, sind von einer gut ausgesprochenen Kernmembran umgeben und enthalten kleinkörnigen Kernsaft, in dem eine große Menge Kernkörperchen zerstreut sind, die verschiedene Größe zeigen und mit Hämalaun gut färbbar sind; in verschiedenen Kernen zählte ich deren 5—25 (Abb. 29 u. 30). Manchmal sind zwei, seltener drei solche Kerne enthalten, was wahrscheinlich durch das Eintreten der tiefen Narkose nach dem Ablauf der ersten Karyokinese erklärt werden kann. Die erwähnten Eier haben augenscheinlich ihre Teilungsfähigkeit vollkommen eingebüßt, wenigstens wurden darin niemals Strahlungen, Chromosomen oder Spindelbildung beobachtet. Wahrscheinlich verfallen sie der Degeneration und sterben ab; es konnte

auch nicht festgestellt werden, ob dieselben sich von der Narkose beim Übertragen in frisches Seewasser erholen können oder nicht. Der Grund des Auftretens solcher Formen ist allem Anschein nach in der Wirkung sehr tiefer Narkose zu suchen, welche nicht nur eine Paralyse des Protoplasma hervorruft, sondern auch eine Bewegungsparalyse des Kernes mit dem Verlust dessen Teilungsfähigkeit bewirkt. Demgegenüber bleiben aber dessen vegetative Funktionen, die sich in der Assimilationsfähigkeit und der damit zusammenhängenden Ansammlung des Chromatins in Form von zahlreichen Nukleolen äußert, vollkommen erhalten. Letztere übertreffen in ihrer Gesamtmasse nicht nur den Chromatingehalt des normalen reifen Eies, sondern, allem Anschein nach, auch die gesamte Chromatinmenge der Keime entsprechenden Alters (nach 6 Std. 45 Min. bis 64—128 Zellen).



Abb. 28. Durch tiefe Narkose aufgehobene Entwicklungsfähigkeit des befruchteten Eies (6 Std. 45 Min. in 3%iger Alkohollösung).

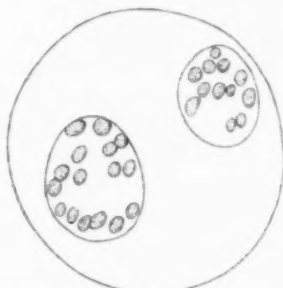
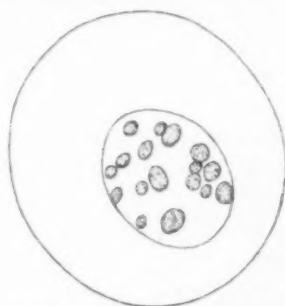


Abb. 29 und 30. Eier mit großen Kernen I. Art mit zahlreichen chromatischen Nukleolen (6 Std. 45 Min. in 3%iger Alkohollösung).

Worin die Ursache solcher Hyperproduktion des Chromatins in den großen Kernen I. Art zu suchen ist, ist schwer zu sagen; möglicherweise verstärken sich die vegetativen Funktionen auf Kosten der Paralyse der Bewegungsfähigkeit; es könnte aber andererseits eine Depression des Regulierungsapparates eine Rolle spielen, welcher in normalen Eiern während der ganzen Entwicklungsperiode eine konstante und geregelte Assimilationstätigkeit der Kerne unterhält und dadurch deren Überbürdung mit Chromatin in früheren Stadien verhindert¹⁾.

¹⁾ Die Wirkung sehr tiefer Narkose gibt sich hier noch dadurch kund, daß die übermäßige Ansammlung von Chromatin und die daraus resultierende

Bei verstärkter Narkose oder größerer Empfänglichkeit der einzelnen Eier dazu, kann für letztere ein Moment des vollen Sistierens der Entwicklung eintreten, mit vollkommener Paralyse sämtlicher der Untersuchung zugänglicher Funktionen sowohl motorischer, wie auch vegetativer Art: nach der Vollendung der Befruchtung bzw. der Kopulation der Kerne verbleibt das Ei im Zustande absoluter Ruhe und zeigt einen kleinen runden Kern mit einem zarten Chromatinnetz, wobei weder im Kern, noch im Protoplasma Bewegungs- oder Assimilationsvorgänge zu beobachten sind (Abb. 28). Dieser Zustand muß wohl als der höchste Grad der Narkosewirkung angesehen werden, nach dessen Überschreiten dieselbe schon ihre toxische Wirkung auszuüben beginnt, die zu Degeneration und Tod des Eies führt.

VIII. Degenerationsformen der Monosyncytien.

Unter den narkotisierten Eiern trifft man gewöhnlich einen gewissen Prozentsatz von Degenerationsformen, welcher proportional der Konzentration des Alkohols und der Einwirkungsdauer desselben erscheint. Auf Grund der im I. Kapitel angeführten statistischen Angaben kann man behaupten, daß der Degeneration vor allem die Eier mit großen Kernen I. und II. Art unterliegen, weil dieselben durch geringere Resistenz der Narkose gegenüber ausgezeichnet sind; demgegenüber werden die Degenerationsprozesse viel seltener in gefurchten, folglich durch die Narkose am wenigsten geschädigten Eiern, angetroffen. Der Degenerationsprozeß tritt gewöhnlich zunächst im Protoplasma ein (Abb. 31); letzteres verliert an einem Rand des Eies sein normales Färbungsvermögen und erhält homogene Struktur; der degenerierende Teil vergrößert sich, indem er sowohl nach der Tiefe, wie nach der Oberfläche sich ausbreitet (Abb. 32). Gleichzeitig sammelt sich in den Kernen das Chromatin in Form von zahlreichen, den Chromosomen ähnlichen Stäbchen; die Kerne nähern sich manchmal bis zum Kontakt und Zusammenfließen, verlängern sich und senden einen dünnen Fortsatz nach dem degenerierten Abschnitt hin. Allmählich wird der ganze Kern in denselben eingezogen, sein Inhalt ergießt sich darin und bildet da Chromatinklumpen (Abb. 33 u. 34); die Kerne mageren dabei ab, deren Membran fällt zusammen und es bleiben nur undeutliche Konturen derselben übrig, welche im weiteren ebenfalls verschwinden. In anderen Fällen degeneriert der Kern in situ, wobei Chromatin die Form von großen Klumpen, Körnern und Fäden annimmt, welche fast den gesamten Kern ausfüllen, letzterer verliert am

Riesenform des Kernes zu einer Störung der Kernplasmarelation im Sinne der übermäßigen Kernvergrößerung im Verhältnis zum gleichbleibenden Protoplasma volumen führt.

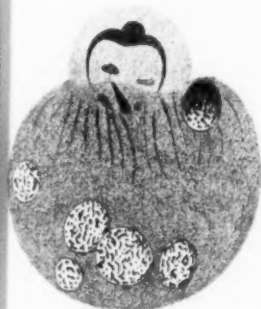


Abb. 31.

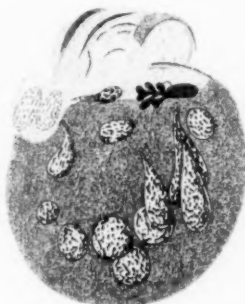


Abb. 32.

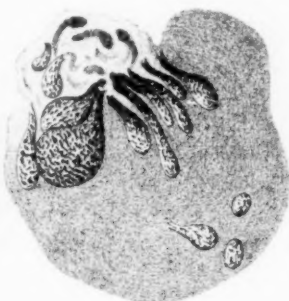


Abb. 33.



Abb. 34.

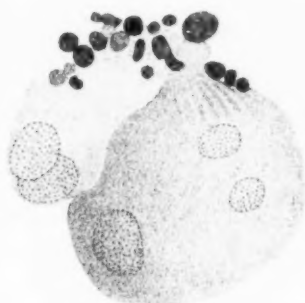


Abb. 35.

Abb. 31–35. Verschiedene Stadien des Degenerationsprozesses in Eiern, die 7 Stunden lang in 2½%iger Alkohollösung verweilt.

Ende seine Umrisse und an seiner Stelle bleiben nur einige Chromatin-klumpen übrig (Abb. 35).

Im gesunden Protoplasmateil werden ebenfalls charakteristische Veränderungen in Form von festen (wie es scheint) Zügen beobachtet, welche sich von der Demarkationslinie nach innen in der Richtung der ausgezogenen Kernfortsätze begeben: es macht den Anschein, als ob im Protoplasma für die Bewegung der Kerne Wege vorbereitet werden. Zum Schluß wandelt sich das ganze Ei in eine formlose Masse um, welche bald abstirbt.

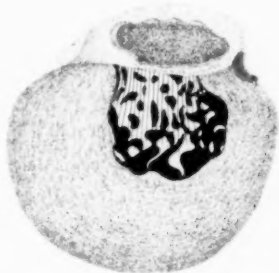


Abb. 36. Degeneration der großen Kerne I. Art (Ölimmersion $\frac{1}{12}$ Leitz und Zeichenokular Leitz).

IX. Schlußfolgerungen.

1. Schwache ($2\frac{1}{2}$ —3%) Alkoholkonzentrationen erscheinen als ein gutes Narkotikum für die sich entwickelnden Seeigeleier.

2. Die Alkohalnarkose ruft tiefe Störungen der Lebensprozesse im befruchteten Ei hervor, die sich in den morphologischen Veränderungen des Kernes sowie des Protoplasmas äußern.

3. Durch Anwendung von verschiedenen Narkosegraden gelingt es, verschiedene Funktionen des Kernes bzw. des Protoplasmas zeitlich zu differenzieren, mit Hilfe sukzessiver Unterdrückung derselben:

- a) Der schwächste Narkosegrad, welcher den Furchungsprozeß nicht verhindert, äußert sich in der Störung sowohl des Synchronismus der Teilungs- und Ruhestadien in einzelnen Blastomeren, wie auch des regelmäßigen Verlaufs der Karyokinese.
- b) Die Verstärkung der Narkose bewirkt eine Paralyse der Bewegungsfunktion des Protoplasma mit Verlust dessen Teilungsfähigkeit und Bildung von Monosyncytien mit peripheren multipolaren Mitosen.
- c) Weitere Verstärkung der Narkosewirkung führt zur Bildung von zentralen mehrpoligen Mitosen und der großen Kerne II. Art.
- d) Volle Narkose mit der Depression sämtlicher motorischer Funktionen sowohl des Protoplasmas wie auch des Kernes äußert sich morphologisch im Auftreten von großen Kernen I. Art mit sehr zahlreichen Chromatinnukleolen, was darauf hinweist, daß deren vegetative Funktionen in vollem Maße erhalten geblieben sind.
- e) Sehr tiefe Narkose, welche an der Grenze der toxischen Wirkung steht, bewirkt das Sistieren sämtlicher der Untersuchung zugänglicher sowohl motorischer, wie vegetativer Funktionen des Eies und den Stillstand seiner Entwicklung, ohne dasselbe zu töten.
- f) Endlich tritt auch die toxische Narkosewirkung auf, welche tiefe Degenerationsprozesse im Kern und Protoplasma hervorruft und den Tod des Eies bewirkt.

4. Die Entwicklung narkotisierter Eier findet mit einer sowohl der Alkoholkonzentration, wie dessen Wirkungsdauer proportionalen Verlangsamung statt.

5. Als ein Resultat der Bewegungsparalyse des Protoplasmas erscheint die Bildung von Monosyncytien.

6. Das Auftreten von multipolaren Mitosen erscheint als eine Folge der Depression, wobei deren komplizierte Struktur die Ursache der Teilungsverlangsamung sein könnte.

7. Die polyzentrischen Mitosen in den Monosyncytien stellen bedeutende Abweichungen von der normalen, streng determinierten Karyokinese dar, welche in äußerster Regellosigkeit des Prozesses sich äußern:

- a) Die Zahl der Zentrosomen kann eine ungerade sein, und besitzt gleich der Spindelzahl den Charakter der Zufälligkeit.
- b) Die gesamte Chromosomenzahl bietet große Schwankungen dar und ist weder durch 36 noch durch 18 teilbar (normale Chromosomenzahl für *Strong. liv.*); ihre Längsspaltung kommt nur teilweise zustande, während zu gleicher Zeit auch deren Umgruppierung erfolgt, wodurch den Tochterkernen ungleiche und reduzierte Chromosomenmengen zukommen.
- c) Die Verteilung der Chromosomen auf die einzelnen Spindeln einer mehrpoligen Mitose entbehrt jeder Gesetzmäßigkeit.
- d) Die zentralen mehrpoligen Mitosen stellen außer den aufgezählten Eigentümlichkeiten noch eine Störung des Synchronismus dar.

8. Die narkotisierten Eier verlieren ihre Teilungsfähigkeit nicht, indem sie bei der Abschwächung bzw. dem Aufhören der Narkose zur Furchung schreiten, die in atypischer Weise durch allmähliche Abgrenzung einzelner Blastomeren aus dem Muttersyncytium vermittels der Karyokinese geschieht.

9. Die Bildung des Blastocoels und der Form des Embryo (Blastula, Gastrula) findet bei den Seeigeleiern im syncytialen Zustand nicht statt; der Formbildungsprozeß hängt mit der Furchung des Eies in einzelne Blastomeren zusammen, deren sich das *Ganze* als leicht beweglicher Einheiten zur Umlagerung der Protoplasamassen in nötige Stellen bedient.

10. Die Versuche mit der Narkose der sich entwickelnden Eier von *Strong. liv.* weist mit Bestimmtheit auf die Existenz eines komplizierten Regulationsapparates in denselben hin, welcher die gesetzmäßige Ausführung sämtlicher Zellfunktionen bestimmt, wobei eine Verminderung oder Verstärkung der Narkose eine teilweise oder vollkommene Paralyse des erwähnten Apparates bewirkt, als dessen Resultat eine Desorganisation und Regellosigkeit der der Zelle eigenen Lebensprozesse erscheint.

11. Die Anwendung der statistischen Methode zu der Untersuchung der narkotisierten Seeigeleier gibt wichtige Angaben betreffend das Bild der sukzessiven Narkosestadien wie auch der individuellen Verschiedenheiten einzelner Eier im Sinne deren ungleicher Reaktion auf ein- und denselben Narkosegrad.

In der vorliegenden Mitteilung beschränke ich mich mit der Darlegung der festgestellten Tatsachen, welche den ersten Teil meiner Untersuchungen über die Narkose der Seeigeleier betreffen. Die Literaturübersicht, sowie auch die theoretischen Betrachtungen werden in der folgenden Arbeit angeführt, welche der Frage über die Polysyncytien mit besonderer Berücksichtigung der Probleme der Regulation und des funktionellen Zusammenhanges der Blastomeren untereinander gewidmet wird.

Über die histologischen Vorgänge bei der Regeneration von Tritonen mit Beteiligung ortsfremder Haut.

Von

Dr. Erwin Taube.

(Aus dem Zoologischen Institut der Universität Heidelberg.)

Mit 19 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. August 1922.)

In meiner Arbeit über Regeneration mit Beteiligung ortsfremder Haut bei Tritonen (Nr. 15, 1921) habe ich mich mit der Beschreibung der äußeren Vorgänge begnügen müssen, weil die histologische Untersuchung das Erscheinen der Arbeit unverhältnismäßig verzögert hätte. Nachdem nun der größte Teil des alten und zum Teil neuen Materials geschnitten ist, habe ich so weit Einblick in die histologischen Vorgänge gewonnen, daß ich das Fehlende durch diesen Nachtrag ergänzen kann.

Methoden.

Die Fixation geschah hauptsächlich in *Michailisscher* Flüssigkeit, mitunter auch nach *Carnoy*, *Zenker* und *Petrunkewitsch*. Entkalkt wurde in 10% salpetersaurem 96-Alkohol. Als beste Färbung erwies sich Vorfärbung mit Hämalaun und Nachfärbung mit Pikrinsäure-Säurefuchsin. Zwar ist die Färbung etwas diffizil, weil durch die Säurewirkung das Hämalaun leicht etwas zu stark ausgezogen wird. Fügt man aber beim Durchgehen durch die aufsteigende Alkoholreihe dem 96-Alkohol etwas NH_3 hinzu, so bekommt man meist sehr hübsche Resultate: Kerne blau, Muskel und Drüsen gelb, Bindegewebe — vor allen Dingen die Cutis — rot. Letzterer Umstand erwies sich bei der Unterscheidung des Transplantates von der angrenzenden normalen Haut meist als besonders wichtig.

Der Anschluß der roten Bauchhaut an die pigmentierte Haut.

Es handelt sich hier um das Angrenzen der Manschette an die normale Beinhaut von *alpestris* oder *cristatus* und bei den Taschentieren um den Zusammenschluß der in situ belassenen Bauchhaut an die pigmentierte Haut des Oberschenkels. Von besonderer Wichtigkeit ist dabei der erste Fall, namentlich dort, wo es sich um heteroplastische Transplantation mit nachträglicher Chimärenbildung handelt. Es muß hier vor allen Dingen nachgewiesen werden, daß die Man-

schette tatsächlich erhalten geblieben ist; daß keine Unterwachsung oder Überwachsung von seiten des normalen Epithels und dadurch allmählicher Ersatz des Manschetteneithels stattgefunden hat. Dieser Nachweis läßt sich nicht immer unter Zugrundelegung eines einzigen bestimmten Merkmals führen, sondern es müssen verschiedene Kriterien in Betracht gezogen werden. Die anfänglich so bequeme Unterscheidung zwischen pigmentierter und unpigmentierter Haut wird im Laufe der Monate mit zunehmender Pigmentierung der Manschette immer schwieriger und schließlich ganz unmöglich. Es sind dann aber meist andere Merkmale vorhanden, die auch dann noch ein Abgrenzen der Manschette ermöglichen. Am längsten, vielleicht dauernd, bleibt eine Bildung erhalten, die ich als »Verwachsungswulst« bezeichne. Es ist dieses die Stelle, wo die beiden Epithelien unmittelbar zusammen-

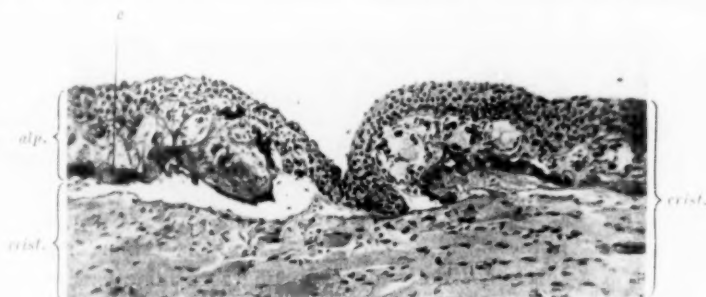


Abb. 13). Objekt Nr. 270. Längsschnitt durch das Bein von *cristatus* mit Manschette von *alpestris*. *Cristatus*- und *alpestris*-Haut stoßen im Verwachsungswulst zusammen.

stoßen. Hier bildet sich eine ringförmige Epithelverdickung aus, die wulstartig nach innen vorspringt, so daß auf Längsschnitten das Epithel in Form eines soliden Follikels vorragt. Äußerlich ist diese Stelle häufig auch durch eine entsprechende ringförmige Einschnürung gekennzeichnet. Auf der Abb. 1 sind Einschnürung und Verwachsungswulst sehr deutlich ausgeprägt. (Abb. 1.) Die äußere Einschnürung kann viel geringer ausgebildet sein als im vorliegenden Fall, ja fast vollkommen fehlen, der innere Wulst läßt dann trotzdem die Stelle des Zusammenstoßens der beiden Epithelien gut erkennen. In einer soeben erschienenen Arbeit von Cole (Nr. 4, 1922), die sich mit Hauttransplantationen an Kaulquappen beschäftigt, wird dieselbe Erscheinung erwähnt und abgebildet.

¹⁾ Abb. 1, 10—15, 17—19 sind Photographien, Abb. 16 ist eine schematische Zeichnung. Die übrigen Abbildungen sind nach farbigen Zeichnungen, die mit dem Zeichenapparat entworfen wurden, reproduziert. Abb. 1, 2, 10, 11, 13, 17—19 bei schwacher Vergrößerung, die übrigen (mit Ausnahme von 16) bei starker. Schnittdicke 10 μ , nur Abb. 18 bis 15 μ . Abkürzungen: c Cutis, M Mitose.

Ein zweites Mittel, die Manschette auch nach ihrer Pigmentierung auf Längsschnitten zu erkennen, ist das Verhalten der Cutis. Die Cutis der Bauchhaut ist meist stärker entwickelt als die des Beines. Erfolgte die oben angegebene Färbung, so sind die rotgefärbte Cutis und damit die Grenzen der Manschette gewöhnlich gut zu erkennen. Dort, wo ein Verwachsungswulst ausgebildet ist, findet außerdem eine Unterbrechung der Cutis statt. Schließlich sind die Drüsen der Manschette in den ersten Wochen nach der Transplantation von denen der normalen Haut durch den geringeren Grad der Füllung zu unterscheiden. Einen spezifischen Unterschied zwischen den Zellen auch der artungleichen Epithelien, wie ihn z. B. *Spemann* (Nr. 14, 1921) für die Keime von *Tr. cristatus* und *taeniatus* beschreibt, habe ich nicht finden können. Trotzdem kann ich in den meisten Fällen an meinen Präparaten mit Sicherheit angeben, wo es sich um die transplantierte Bauchhaut oder die normale Beinhaut handelt. Es darf nicht vergessen werden, daß die Beurteilung eines bestimmten Falles durch das Protokoll wesentlich erleichtert wird. Wenn es dort z. B. ausdrücklich heißt, daß die Manschette an ihrer Farbe und Struktur noch deutlich zu erkennen war, so kann man sicher sein, auf dem Schnitt an der betreffenden Stelle *alpestris*-Epithel vor sich zu sehen, auch wenn dieses Mal die Grenzen gegen das *cristatus*-Epithel nicht deutlich sind. Ähnliche Fälle, in denen durch das Vorhandensein eines deutlichen Verwachsungswulstes und die unterbrochene Cutis auch die Grenzen der Manschette scharf und eindeutig zu erkennen sind, dienen als geeignete Kontrolle. Zweifelhafte Fälle wurden zur Beurteilung nicht herangezogen.

Das Ergebnis, zu dem ich gekommen bin, ist nun, daß das Transplantat im allgemeinen erhalten bleibt. Daß Autotransplantate selbst bei höheren Tieren gut und glatt einheilen, ist eine bekannte Tatsache. Auch homöoplastische Transplantation ist sowohl bei wirbellosen Tieren wie bei niederen Wirbeltieren häufig mit Erfolg ausgeführt worden. Schwieriger gelingt sie bei Säugetieren und beim Menschen. Diesbezügliche Fälle stellt *Schöne* (Nr. 13, 1912) zusammen. Aus seinen eignen Versuchen an Ratten und Mäusen schließt er, daß Hauttransplantationen am besten bei jugendlichen Tieren aus einem Wurf gelingen. Was nun schließlich die heteroplastische Transplantation anbelangt, so haben sich hier die Schwierigkeiten als noch größer erwiesen. Doch auch hier sind erfolgreiche Zusammensetzungen artfremder Komponenten bekannt geworden. Ich erinnere nur an die Resultate von *Born*, *Crampton*, *Harrison*, *Harms* an Wirbellosen und Amphibien. — In bezug auf höhere Tiere und den Menschen sagt *Schöne*, »daß die dauernde Übertragung lebendiger Zellen, welche einer fremden Art angehören, . . . im allgemeinen nicht gelingt . . .« (S. 35).

Bei meinen Versuchen kam autoplastische Verpflanzung der Bauchhaut nicht in Betracht, weil die Tiere infolge der großen Bauchwunde nicht am Leben zu erhalten waren. Nur die Implantation des enthäuteten Beines unter die Bauchhaut bei den sog. Taschentieren stellt eine besondere Art der Autotransplantation vor. Dem Zusammenwachsen der beiden Teile bieten sich daher nach unseren bisherigen Erfahrungen keine besonderen Schwierigkeiten dar. Dasselbe läßt sich von den homöoplastischen Manschetten sagen, die immer glatt anwachsen und dauernd erhalten blieben. Nur die heteroplastische Übertragung von *alpestris*-Haut ging nicht so leicht vor sich: bei *Tr. taeniatus* wurde die artfremde Haut fast immer abgestoßen, bei *cristatus* erfolgte aber in den meisten Fällen glatte Einheilung.

Daß die *alpestris*-Manschette, auf das Bein von *alpestris* gebracht, nach der Amputation des letzteren wieder nur *alpestris*-Zellen für die Epidermis des Regenerates liefert, ist von keinem besonderen theoretischen Interesse. Anders liegt es aber, wenn die *alpestris*-Haut das Epithel für ein regenerierendes *cristatus*-Bein zu liefern hat, wie es bei der heteroplastischen Manschette der Fall ist. Die aus dem Wundrande der *alpestris*-Haut neu hervorgehenden Epithelzellen befinden sich anfangs in einem jugendlichen, mehr embryonalen Zustande und sind daher besonders gut geeignet, eine innige Verbindung mit der aus dem Stumpf hervorgehenden Regenerationsknospe des *cristatus*-Beines einzugehen. Es kommt hier daher zur Bildung einer ausgesprochenen Periklinalchimäre, auf deren Entstehung ich etwas genauer eingehen will.

Die Bildung von Periklinalchimären und die ersten Vorgänge beim Wundverschluß.

Da es mir bei der Entstehung von Periklinalchimären durch Regeneration eines heteroplastischen Transplantates vor allen Dingen darauf ankam, nachzuweisen, daß die Manschette zur Zeit der Amputation noch vorhanden war und die ersten Vorgänge des Wundverschlusses dabei besonders wichtig waren, so wurden im Frühjahr 1921 noch einige neue Operationen ausgeführt. Es wurden sieben Exemplare von *Tr. cristatus* mit Manschetten von *alpestris*-Haut versehen. In einem Falle wurde die Manschette nach etwa zwei Monaten wieder abgeworfen. Bei dem Versuchen vom Jahre vorher erfolgte die Amputation nach drei Wochen bis zu drei Monaten, und das Regenerat wurde erst nach mehreren Monaten konserviert. Bei einem längeren Zeitraum zwischen Operation und Amputation wäre es wohl denkbar, daß die Manschette durch von unten nachwachsendes *cristatus*-Epithel ersetzt wird. Daß solch ein Ersatz bei schlecht angeheilter Manschette mitunter vorkommen kann, halte ich für durchaus möglich. Der eben

erwähnte Fall, daß die Manschette auch nach zwei Monaten noch abgeworfen werden kann, spricht sicher dafür. Trotzdem sehe ich hierin nur eine Ausnahme, denn meist wuchsen die Manschetten an und blieben auch nach einem Jahr oder länger erhalten.

Um nun ganz sicher zu sein, daß der Wundverschluß nicht etwa von dem unter der Manschette nachwachsenden *cristatus*-Epithel erfolgt, wodurch dann nur eine Periklinalchimäre vorgetäuscht würde, wurde bei den neuoperierten Tieren die Amputation ziemlich bald nach dem Anlegen der Manschette ausgeführt und die Regenerate einige Tage darauf konserviert. Der Wundverschluß mußte dann unbedingt von dem Manschetteneithel aus ausgehen, da in der kurzen Zeit das *cristatus*-Epithel unmöglich das Hindernis der Manschette beseitigen oder umgehen konnte. Die einzelnen Exemplare wurden in folgenden Zeitabständen amputiert bzw. das Regenerat konserviert:

| Nr. | Amputiert nach | Alter des Regenerates |
|-----|----------------|-----------------------|
| 270 | 10 Tagen | 1 Tag |
| 267 | 11 " | 2 " |
| 271 | 12 " | 5 " |
| 268 | 13 " | 5 " |
| 273 | 27 " | 14 " |
| 272 | 27 " | 42 " |

Gleichzeitig mit der Amputation des rechten manschettentragenden Beines wurde auch das linke normale Bein amputiert und konserviert,

so daß für jedes Alter der regenerierenden Manschette ein gleichaltriges normales Kontrollpräparat zur Verfügung stand.

Bei der Durchsicht der Schnitte durch die jungen Regenerate hatte ich zuerst den niederdrückenden Eindruck, als ob die dem äußeren Anschein nach vollkommen normalen und frisch aussehenden Manschetten tatsächlich schon einer weitgehenden Degeneration anheimgefallen wären: das Epithel, namentlich in der Nähe des Wundrandes, schien in vollkommenem Zerfall begriffen, die einzelnen Zellen waren zwar als solche erhalten, zwischen ihnen waren aber weite Lücken entstanden, ihr Zusammenschluß zu

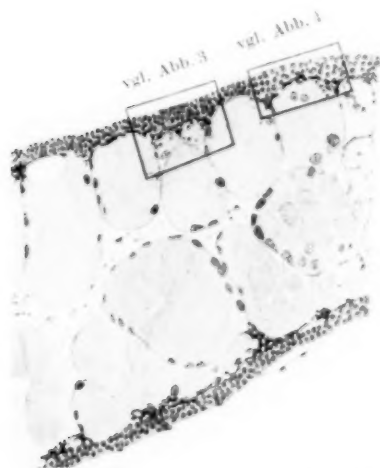


Abb. 2. Objekt Nr. 278. *Alpestris*. Horizontalschnitt durch den Schwanz, 3 Stunden nach der Amputation der Spitze. In der Nähe des Wundrandes Auflockerung des Epithels.

einem Epithel hatte aufgehört. Das konstante Auftreten dieser Erscheinung im Manschettenepithel aller jüngeren Regenerate und ähnliche Befunde im Epithel der normalen Kontrollpräparate reiften in mir schließlich die Überzeugung, daß es sich bei dieser Auflockerung des Epithels um einen physiologischen Vorgang handle, der mit dem ersten Wundverschluß durch das Epithel eng verknüpft ist.

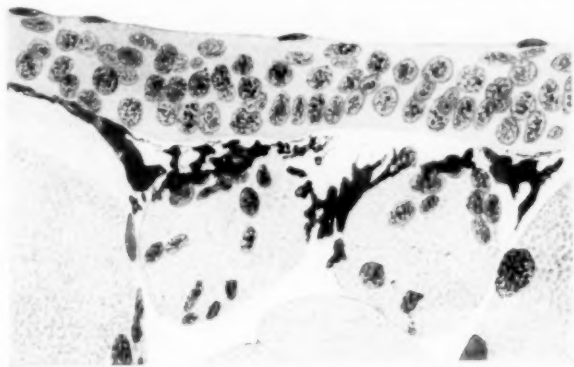


Abb. 3. Objekt Nr. 278. *Alpestris*. Schnitt durch das Epithel des Schwanzes in einiger Entfernung vom Wundrande, 3 Stunden nach der Amputation des Schwanzes (vgl. Abb. 2).

Wenn diese Annahme zutreffend war, so mußte diese Erscheinung sich bei jeder beginnenden Regeneration bzw. beim Wundverschluß zeigen. Um das zu prüfen, wurde mehreren Exemplaren von *alpestris*

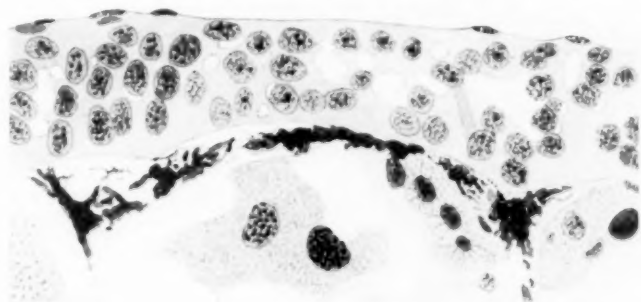


Abb. 4. Objekt Nr. 278. Ein Teil des Epithels desselben Schnittes in der Nähe des Wundrandes (vgl. Abb. 2).

die Schwanzspitze abgeschnitten. Nach 3, 6, 12, 24 Stunden wurde von neuem das Ende des Schwanzes abgeschnitten und konserviert. Auf Schnitten ließ sich dann ohne weiteres dieselbe Auflockerung des Epithels erkennen. Abb. 2 stellt einen Horizontalschnitt durch das Ende des Schwanzes dar, drei Stunden nach der Amputation der Spitze. (Abb. 2.) Die ganze Fläche des Schnittes, der dorsal geführt

wurde, ist von riesigen Drüsen eingenommen. An der zerstreuten Anordnung der Kerne in der Nähe des Wundrandes erkennt man, daß hier eine Auflockerung stattgefunden hat, während weiter proxi-

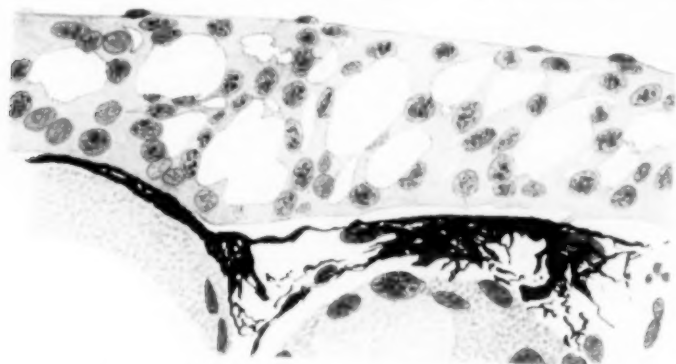


Abb. 5. Objekt Nr. 279. Epithel des Schwanzes in der Nähe des Wundrandes 6 Stunden nach der Amputation des Schwanzes. Starke Auflockerung.

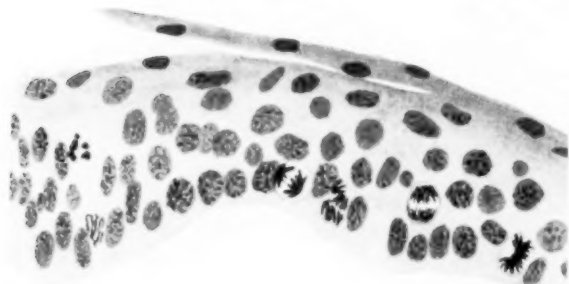


Abb. 6. Objekt Nr. 270. *Cristatus*-Manschettentier. Aus einem Längsschnitt durch das Bein. *Cristatus* Epithel.



Abb. 7. Objekt Nr. 270. Derselbe Schnitt wie Abb. 6. Manschettenepithel. Auflockerung.

mal die Kerne ganz dicht liegen. Abb. 3 und 4 geben die entsprechenden Stellen des Epithels bei stärkerer Vergrößerung wieder. (Abb. 3, 4.) Das erste Bild (proximal) zeigt einen vollkommenen Zusam-

menschluß der Zellen zu einem festgefügtten Epithel. Die Grenzen der Zellen sind nicht zu erkennen, nirgends sind zwischen ihnen Lücken vorhanden. Im zweiten Bilde (distal) sind die Kerne auseinandergetreten, so daß auf die Flächeneinheit eine kleinere Zahl kommt. An vielen Stellen sind zwischen den Zellen Lücken aufgetreten, die mitunter zu größeren Hohlräumen verschmolzen sind. Noch viel ausgesprochener ist diese Erscheinung auf dem Bilde, Abb. 5, das einen Schnitt durch ein Schwanzende sechs Stunden nach erfolgter Amputation der Spitze darstellt (Abb. 5). Hier sind es nicht mehr kleine Lücken, sondern — im Verhältnis zur Zellgröße — gewaltige Hohlräume, die das ganze Epithel durchsetzen und den Eindruck seines Zerfalls hervorrufen. Nur um ein oder zwei Gesichtsfelder weiter nach links, d. h. proximalwärts, gewinnt das Epithel sein normales Aussehen wieder. Ein Vergleich der beiden letzten Bilder mit dem des normalen Epithels zeigt eine beträchtliche Höhenzunahme, die ja als Folge der Auflockerung leicht verständlich ist.

Vergleichen wir nun damit Schnitte durch die normale *cristatus*-Haut und die regenerierende Manschette. Abb. 6 und 7 geben Bilder aus einem Längsschnitt durch das Objekt Nr. 270 (Abb. 6, 7). Es waren 24 Stunden nach der Amputation des Fußes verflossen. Das *cristatus*-Epithel (Abb. 6) ist sehr schön und regelmäßig ausgebildet, in der *Malphigi*-

schen Schicht findet sich eine ganze Reihe von schönen Kernteilungsfiguren. Wahrscheinlich ist die stärkere Zellvermehrung auf einen von der kürzlich erfolgten Wundsetzung (10 Tage nach der Operation) herrührenden Reiz zurückzuführen. Das Epithel der Manschette dagegen (Abb. 7) zeigt ebenso wie das obenbeschriebene normale regenerierende Epithel weitgehende Auflockerung, so daß seine Dicke in diesem Fall sogar beträchtlicher ist als die des *cristatus*-Epithels. Die Grenze zwischen beiden Epithelien ist durch den schon

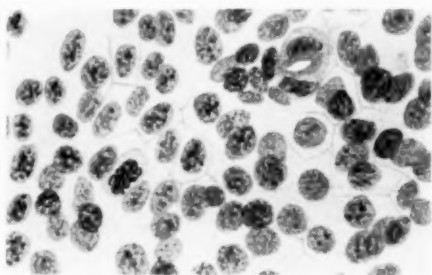


Abb. 8. Objekt Nr. 267. Tangentialschnitt durch das Bein eines *cristatus*-Manschetientieres, *Cristatus*-Epithel.

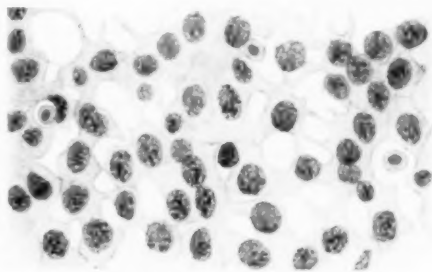


Abb. 9. Objekt Nr. 267. Derselbe Schnitt wie Abb. 8. Manschettenepithel.

erwähnten, wohl ausgeprägten Verwachsungswulst gekennzeichnet. Der Zusammenschluß erfolgte so glatt, daß sich nicht sagen läßt, welche Zellen hier dem einen oder dem anderen Epithel zuzuschreiben sind. Nur ein wenig weiter nach links läßt sich aber nach dem Charakter



Abb. 10. Derselbe Schnitt wie in Abb. 4. Objekt Nr. 270. Wundfläche des Stumpfes. Regenerat 1 Tag alt. Frei vorwachsender Rand des Manschettenepithels.

der ausgeprägten *alpestris*-Cuticula mit absoluter Sicherheit sagen, daß hier Manschettenepithel vorliegt. Nirgends ist eine Spur vorhanden, daß das *cristatus*-Epithel unter oder über die Manschette gewachsen wäre.

Die Abb. 8 und 9 geben Tangentialschnitte durch entsprechende Hautpartien wieder. (Abb. 8, 9.) Die Amputation war vor zwei Tagen



Abb. 11. Objekt Nr. 270. Längsschnitt durch das normale, linke Bein. 4 Tag nach der Amputation des Fußes. Alter des Regenerates 1 Tag. Frei über die Wundfläche vorwachsender Rand des *cristatus*-Epithels.

erfolgt. Das erste Bild stellt *cristatus*-Epithel dar. Eine dichte Lagerung der Kerne und ein lückenloser Zusammenschluß der Zellen ist zu beobachten. Die einzige Lücke, die wir sehen, ist der Querschnitt durch den Ausführungsgang einer Hautdrüse. Der Schnitt durch das

Manschettene epithel (aus demselben Schnitt) zeigt die beschriebene Auflockerung. (Abb. 9.) In einigen Lücken finden sich Blutkörperchen.

Die beschriebenen Bilder könnten leicht den Eindruck eines infolge von Degeneration eingetretenen Zerfalles des Manschettene epithels

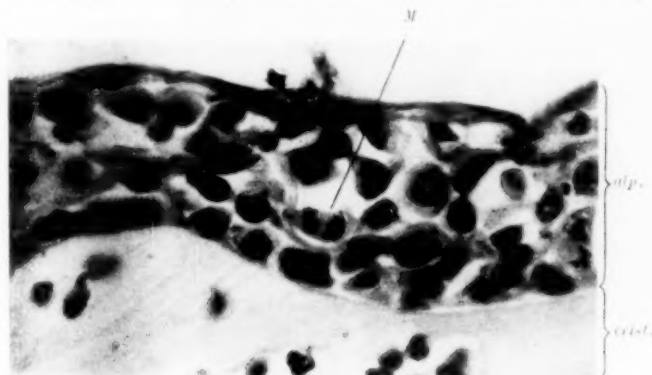


Abb. 12. Objekt Nr. 267. Längsschnitt durch das Bein von *crisatus* mit Manschette von *alpestris*. 2 Tage nach der Amputation des Fußes. Alter des Regenerates 2 Tage. Die Wundfläche ist ganz von Manschettene epithel bedeckt, das Auflockerung zeigt. Mitose! M

hervorrufen. Dagegen sprach schon, daß bei der normalen Regeneration dieselben Bilder auftreten. Der in den ersten Tagen nach der Amputation von der Manschette aus erfolgende Wundverschluß, der genau in derselben Weise erfolgt wie bei der normalen Regeneration,



Abb. 13. Objekt Nr. 271. Längsschnitt durch das Bein von *crisatus* mit Manschette von *alpestris*. Alter des Regenerates 5 Tage. Ende des Stumpfes teilweise von vorwachsendem Manschettene epithel bedeckt. Starke Zellanhäufung über der Wundfläche.

läßt aber die anfängliche Vermutung als vollkommen ausgeschlossen betrachten. Die ersten Vorgänge bei der Regeneration, die in einem sehr rasch erfolgenden Wundverschluß bestehen, sind oft beschrieben worden. Das Wesentliche daran ist, daß das Epithel der Wundränder

in einer noch nicht ganz aufgeklärten Weise sich über die Wunde schiebt, so daß der Verschluß schon innerhalb 24 Stunden erfolgen kann. Eine Vermehrung der Zellen wird dabei anfangs nicht beobachtet, erst später treten Mitosen auf. Genau in derselben Weise findet nun auch der Verschluß der Wunde von der Manschette aus statt. Abb. 10 gibt uns ein Bild davon, das von einem 24 Stunden alten Regenerat stammt. (Abb. 10.) Der freie Wundrand der Manschette läßt sich leicht an der stark entwickelten, rotgefärbten Cutis erkennen, die auf der Photographie schwarz aussieht. Von dort aus hat sich das Epithel als ein dünnes Häutchen, das zum Teil aber mehrschichtig ist, schon ziemlich weit über die Wundfläche nach rechts verschoben. Genau in derselben Weise hat am normalen linken Bein, das zu

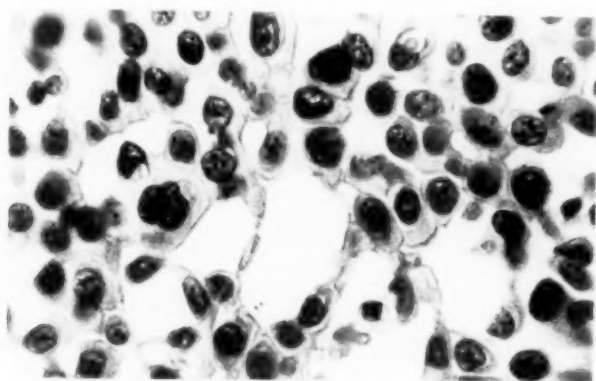


Abb. 11. Ein Teil aus der starken Zellanhäufung der vorhergehenden Abbildung (aus der rechten Hälfte) bei starker Vergrößerung. Ausgesprochene Auflockerung des Epithels.

gleicher Zeit amputiert und nachher konserviert wurde, die Wundbedeckung durch Verschiebung des Epithels (ohne Cutis) begonnen, (Abb. 11.) Das zarte Häutchen kann natürlich durch die technische Behandlung leicht von der Unterlage abgehoben werden, wie hier im Bilde. (Abb. 11.)

Der vollkommene Verschluß der Wunde findet nach verschiedenen langer Zeit statt. Er kann schon zwei Tage nach der Amputation erfolgen, wie Abb. 12 zeigt. (Abb. 12.) Die ganze Wundfläche war hier gleichmäßig von einem ziemlich dicken Epithel bedeckt, das eine starke Auflockerung erkennen läßt. Wichtig ist dieser Schnitt auch deswegen, weil er eine wohlerhaltene Mitose auf dem Stadium der Tochterplatten aufweist (*M*). Diese Stelle befindet sich an der äußersten Spitze des Stumpfes, also ziemlich gleich weit von den ursprünglichen Wundrändern. Das Vorhandensein von Kernteilungen in einem Epithel, das zweifellos vom Epithel der Manschette her stammt, zeigt nun un-

trüglich, daß diese Zellen noch vollkommen lebensfrisch sind und von einer Degeneration nicht die Rede sein kann. Beim genauen Durchmustern der Präparate wurden Mitosen auch auf anderen Schnitten im neu entstehenden Epithel der Wundfläche gefunden, was eine weitere Bekräftigung dieser Ansicht bietet. Erwähnt sei noch nebenbei, daß das ganze Epithel über der Wundfläche eines so jungen Regenerats natürlich noch von keiner Cutis unterlagert ist, die erst nach mehreren Wochen auftritt.

Ein späterer Wundverschluß findet dann statt, wenn aus der Wunde spitze Knochenenden etwas weiter hervorragen, so daß das sich vorschiebende Epithel dieses Hindernis nicht so leicht bewältigen kann. So etwas fand sich z. B. auf Schnitten durch ein fünf Tage altes Regenerat. Abb. 13 zeigt uns den Wundrand der Manschette

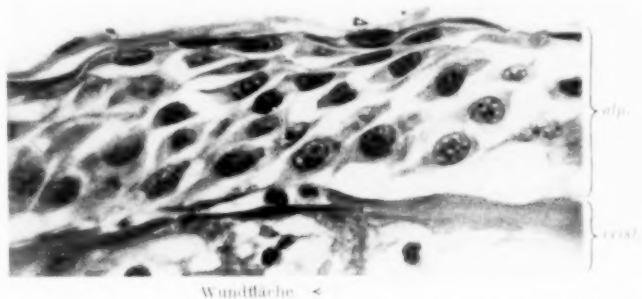


Abb. 15. Dasselbe Objekt und derselbe Schnitt wie Abb. 13 und 14 an einer anderen Stelle. Das Manschettenepithel ist in starker Auflöckerung. Die Längsachsen der Zellen sind schräg gestellt. Wanderrichtung zur Wundfläche hin.

und gleichzeitig eine andere interessante Erscheinung. Beim Vorücken der Epithelzellen über die Wundfläche konnte ich mehrfach beobachten, daß die lockeren Zellmassen alle kleinen Vertiefungen ausfüllen. Man hat den Eindruck einer sich langsam vorwärts bewegenden, zähflüssigen Masse, wie z. B. eines Lavastromes, der erst alle Hohlräume und Vertiefungen anfüllt, bevor er sich weiter bewegt. An einem größeren Hindernis muß sich solch eine Masse stauen, während von hinten immer neuer Nachschub erfolgt. Diesen Vorgang sahen wir nun auf dem Bilde. Rechts ragt ein Stück Knochen aus der Wunde hervor (auf der Photographie nur undeutlich zu sehen). Die große Vertiefung zwischen dem Knochen und dem ursprünglichen Schnitttrande der Manschette (kenntlich an der Ausdehnung der Cutis, *c*) ist nun von einer gewaltigen Masse lockerer Epithelzellen angefüllt, die an Durchmesser das normale Epithel um das Fünf- bis Sechsfache übertrifft. Außerdem läßt sich hier in vorzüglicher Weise die weitgehende Auflöckerung des Epithels studieren, wie aus Abb. 14, einem

Teil von Abb. 13 bei stärkerer Vergrößerung, klar zu erschen ist. Ein ähnlicher Grad der Auflockerung wie hier im neu sich bildenden Epithel ließ sich am selben Schnitt stellenweise im Epithel der Manschette selbst beobachten. Abb. 15 zeigt uns solch eine Stelle. Hier tritt noch eine eigentümliche Erscheinung besonders deutlich auf, die ich auch an anderen Präparaten, wenn auch nicht immer so ausgesprochen, beobachtet habe. Die Zellen des Epithels haben hier fast alle eine mehr oder weniger spindelförmige Gestalt angenommen, wobei ihre Längsachsen mit der Unterlage einen spitzen Winkel bilden, der proximal offen ist. Es macht den Eindruck, als ob die Zellen durch irgendeine treibende Kraft, z. B. ein zur Wundfläche hinströmendes Medium, in annähernd gleiche Lage gebracht worden wären. Allerdings läßt sich mit derselben Berechtigung sagen, daß von der Wundfläche aus ein richtender Reiz auf die Zellen ausgeübt wird.

Die vor oder während der Epithelverschiebung stattfindende Auflockerung des Epithels ist auch früheren Beobachtern nicht unbemerkt geblieben. Von älteren Schriftstellern nenne ich *Fraissé* (Nr. 5, 1885). Von einem Präparat von *Triton cristatus*, das Schnitte durch ein 6 Stunden altes Regenerat von Epidermis darstellt, sagt er, daß »sich zunächst eine Erweiterung des Lakunensystems zwischen den einzelnen Epidermiszellen« zeigt (S. 55). Das beigegebene Bild (Taf. I, Abb. 8), von dem er übrigens selbst sagt, daß der Zeichner leider die feinen Details sehr vernachlässigt hat, läßt allerdings die Lakunen zwischen den Zellen in keiner Weise erkennen, wohl aber zeigt es, ebenso wie in meinen Präparaten, das Vorwandern des Epithels über die Wundfläche. Das Verschwinden von Cuticularsaum und Zellbrücken in der Nähe des Wundrandes des regenerierenden Epithels, auf das *Barfurth* (Nr. 1, 1891) hinweist, ist ja auch nichts anderes als der Ausdruck einer Auflockerung des Epithels. Nicht alle neueren Beobachter scheinen auf die Auflockerung des Epithels beim ersten Wundverschluß geachtet zu haben. *Fritsch* (Nr. 6, 1911), der eingehend die ersten Regenerationsvorgänge an Salamandern und Tritonen untersucht hat, erwähnt sie weder bei der Regeneration der Extremitäten der Larven noch der ausgewachsenen Tiere. Er beschreibt, wie bei Larven schon eine Viertelstunde nach der Amputation die Annäherung der Wundränder, sowie ein Vorschreiten der in der Umgebung der Schnittwunde gelegenen Epidermiszellen stattgefunden hat (S. 384). Im Alter von 12 Stunden ist das die Wunde überziehende Epithel bereits zweischichtig, Kernteilungsfiguren sind aber noch nicht zu sehen. In ähnlicher Weise erfolgen die Vorgänge bei den erwachsenen Tieren, nur tritt hier der Wundverschluß etwas später ein. Bei der Beschreibung der Regeneration der vorderen Extremität und des Schultergürtels nach vollständiger Exstirpation heißt es allerdings von einem 3tägigen

Regenerat, bei dem der Wundverschluß schon erfolgt war: »Die einzelnen Epithelzellen liegen noch wirr durcheinander, zwischen ihnen treten noch größere von roten und weißen Blutkörperchen erfüllte Lakunen auf« (S. 406). Diese Worte und das beigegegebene Bild (Abb. 9, S. 406) sprechen dafür, daß der Vorgang wenigstens nicht ganz unbemerkt geblieben ist.

In seinen kausal-morphologischen Zellenstudien untersucht *Oppel* (Nr. 11, 1913) sehr eingehend die Vorgänge bei der Wundbedeckung am Explantat der Cornea und stellt dabei den Begriff der »aktiven Epithelbewegung« auf, der er eine große Bedeutung für die verschiedensten beim Gestaltungs- und Erhaltungsgeschehen sich abspielenden Vorgänge zuschreibt. Die Realisation dieses Vermögens ist wohl auf äußere Faktoren, wahrscheinlich auf von der Wundfläche ausgehende Reize, die als »Richtungsreize« wirken, zurückzuführen (S. 397). *Oppel* hat auch beobachtet, daß die Zellen bei ihrer Ortsveränderung sich mit ihrer Längsachse in der Richtung ihrer Bewegung einstellen. Die Lockerung der Epithelzellen aus dem Interzellularverbande hält er ohne aktive Zellentätigkeit für schwer denkbar und daher mit einer rein passiven Bewegung kaum vereinbar (S. 401).

Einer der letzten Bearbeiter der Regenerationerscheinungen, *Schavel* (Nr. 12, 1921), erwähnt die Auflockerung beim Wundverschluß des larvalen Integuments beim Axolotl nicht.

Das Wesentliche bei der Auflockerung des regenerierenden Epithels scheint mir nun das zu sein, daß dadurch erst die *Bedingungen* für die so oft beschriebene Verschiebung der Epithelzellen bei der ersten Wundbekleidung geschaffen werden. Ein normales Epithel, in dem die Zellen durch Kittsubstanz und Zellbrücken verbunden sind, stellt im besten Falle eine weiche biegsame Masse dar, aus der aber nicht ohne weiteres Zellen losgelöst oder sogar durcheinander geschoben werden bzw. sich aktiv verschieben können. Durch die Auflockerung wird dazu erst die mechanische Möglichkeit gegeben. Erst wenn die Zellen aus ihrem bisherigen festen Verbande losgelöst sind, können sie einem von der Wundfläche ausgehenden Reiz folgen. Es ist dabei nicht notwendig, anzunehmen, daß die Trennung von den Nachbarzellen eine vollkommene ist. Eine lockere und wechselnde Verbindung durch Zellausläufer braucht die Bewegungsfähigkeit in keiner Weise zu stören.

Daß die Auflockerung des Epithels an den Wundrändern eine Folge der Verwundung ist, ist naheliegend, da sie ja am intakten Epithel nicht beobachtet wird. Es fragt sich nun, wie der kausale Zusammenhang ist. Man könnte an Stoffe denken, die erst durch die Verwundung entstehen bzw. durch sie frei werden, durch deren Wirkung das in der Nähe befindliche Epithel zum Zerfall gebracht wird.

Neuerdings hat *Haberlandt* (Nr. 7, 1921; Nr. 8, 1921; Nr. 9, 1922 mit allem Nachdruck darauf hingewiesen, daß die infolge und in der Nähe von Verletzungen an Pflanzenteilen auftretenden vermehrten Zellteilungen auf die Wirkung von *Wundhormonen* zurückzuführen sind. Da diese Arbeiten auch für die besprochene Frage von Bedeutung sind, will ich etwas näher auf sie eingehen.

Von der Annahme ausgehend, daß die Zersetzungsprodukte der verletzten und getöteten Zellen als Zellteilungshormone fungieren, stellte *Haberlandt* folgende Experimente an. Aus Kohlrabi- oder Kartoffelknollen wurden in der Regel drei etwa 1—2 cm hohe Querscheiben herausgeschnitten. Zwei Scheiben wurden unter der Wasserleitung mittelst eines kräftigen Strahles 5—20 Minuten abgespült, die eine von ihnen mit einer ganz dünnen Schicht eines Gewebebreis aus zerriebenen Stücken des Versuchsobjekts bedeckt, die andere blieb unbedeckt. Die dritte Scheibe blieb unabgespült und diente als Vergleichsobjekt. »Solche Versuche wurden in größerer Zahl ausgeführt und ergaben im wesentlichen immer dasselbe Resultat: Unter den abgespülten Wundflächen traten die Zellteilungen bedeutend spärlicher oder wenigstens in einer geringeren Anzahl von Zellschichten auf als unter den nicht abgespülten Flächen. Wurden aber die ersteren mit einer dünnen Schicht von Gewebebrei überzogen, so traten darunter meist ebenso zahlreiche, zuweilen sogar noch reichlichere Zellteilungen auf als unter den nicht abgespülten Flächen. Damit ist die Wirksamkeit von Zersetzungsprodukten der getöteten Zellen als Teilungshormonen erwiesen.« Bei anderen Versuchen wurden die Blätter von *Crassulaceen* durchschnitten. Hier zeigte sich aber, daß sowohl unter den abgespülten wie unabgespülten Wundflächen Zellteilungen eintraten. Dieses anfangs überraschende Resultat erklärt sich dadurch, daß bei diesen Blättern das Interzellularsystem stark ausgebildet ist. Beim Durchschneiden des Blattes können Zellsaft und Plasmateile daher kapillar leicht eindringen und durch Abspülen nicht mehr entfernt werden. Die Bildung von Wundhormonen ist dann nicht mehr zu verhindern. *Haberlandt* wandte dann ein anderes Verfahren an: die Blätter wurden nicht entzweigeschnitten, sondern entzweigerissen. Man erhält auf diese Weise bei dem lockeren Bau des Mesophylls relativ ebene, trockene Reißflächen. Die Trennung geht ganz glatt längs den Interzellularspalten vor sich. Nun wird an der einen Hälfte parallel zur Reißfläche eine Schnittfläche hergestellt, die andere Blathälfte bleibt wie sie ist. Jetzt konnten Wundhormone nur an der Schnittfläche entstehen, während an der Reißfläche die Zellen, mit Ausnahme der Epidermiszellen, ja heilgeblieben waren und infolgedessen keine Zersetzungsprodukte auftraten. Das Resultat war in zahlreichen Versuchen dasselbe: »Während unter den sich bräunenden

Schnittflächen sich jede Zelle der obersten Lage teilte und typische Wundkorkbildung auftrat, blieben die Teilungen unter den grün bleibenden Reißflächen fast vollständig aus; nur die unmittelbar an die zerrissenen Epidermiszellen grenzenden Mesophyllzellen teilten sich manchmal.«

Schließlich hat *Haberlandt* noch durch Versuche an Haaren, Epidermis- und Spaltöffnungszellen festgestellt, daß für den Eintritt von Zellteilungen die Nachbarschaft von Zellen, die durch mechanische Schädigung getötet wurden, nicht unbedingt erforderlich ist. Es genügt »die lokale Verletzung einzelner Zellen, die nicht bis zum Absterben führt, um in ihnen typische Kern- und Zellteilungen auszulösen«. Es können also »auch in geschädigten, aber am Leben bleibenden Zellen Wundhormone entstehen, welche die Zellteilungen auslösen«.

Haberlandt hat aus seinen Versuchen weitgehende Folgerungen über die Bedeutung der Wundhormone für die Befruchtung und Parthenogenese bei Pflanzen und Tieren, für Adventivembryonie usw. gezogen, auf die hier nicht näher eingegangen werden kann. Schon in seiner ersten Mitteilung weist er darauf hin, daß wahrscheinlich auch im Tierreich Wundhormone als Erreger von Zellteilungen eine wichtige Rolle spielen. Er behandelt in seinen Arbeiten nur die Zellteilungen als eine der Folgen einer Verwundung, die sonst noch in verschiedenster Weise sich bemerkbar machen können. Mir scheint es nun, daß die von mir beobachtete Auflockerung des Epithels an den Wundrändern auf ähnliche Wundhormone zurückzuführen ist, die nachher wahrscheinlich auch die Zellteilungen hervorrufen. Natürlich kann das vorläufig nur für die Tritonen gelten, ich zweifle aber nicht daran, daß es auch bei anderen Tieren, wenn auch vielleicht nicht immer in demselben Maße, der Fall sein wird. Den Nachweis, daß es sich hier wirklich um Hormone handelt, in der Weise zu führen, wie es *Haberlandt* bei Pflanzen getan hat, wird bei Tieren, die vorzugsweise Wassertiere sind, nicht gut angängig sein. Man wird hier wohl meist zu der viel umständlicheren Methode der Explantation und von Kulturen in vitro greifen müssen. In bezug auf die Zellteilungen hat ja übrigens *Oppel* (Nr. 10, 1912) und vor ihm schon *Carrel* (Nr. 3, 1911) nachgewiesen, daß solche in explantierten Stücken vorkommen. Um die Wirkung der in den Wundrändern auftretenden Säfte zu prüfen, habe ich in diesem Frühjahr selbst eine Reihe von Versuchen angestellt, die aber nach einem Monat abgebrochen werden mußten, so daß ich hier nicht auf sie eingehen will. Falls die Auflockerung des Epithels auf das Auftreten von Hormonen zurückzuführen ist, so darf angenommen werden, daß sie durch das Blut nicht in nennenswerter Weise weitergeführt werden, denn sonst müßte ihre Wirkung nicht nur in der Nähe der Wunde, sondern auch an anderen Stellen des

Körpers sich bemerkbar machen. Man muß sich deshalb vorstellen, daß von der Schnittfläche aus eine nicht sehr weitgehende Infiltration des angrenzenden Gewebes stattfindet, ähnlich wie nach *Haberlandt* bei den Pflanzen. Schon wenige Stunden nach der Wundsetzung macht sich die Wirkung dieser Hormone in der Auflockerung des Epithels der nächsten Umgebung der Wunde bemerkbar, nimmt nach kurzer Zeit zu und erstreckt sich noch weiter proximalwärts. In dieser Zeit, meist zwischen 12 und 24 Stunden nach der Verwundung, sind nun die besten Bedingungen für die Verschiebung der Epithelzellen, die unter dem Einfluß richtender, wahrscheinlich chemotropischer Reize von der Wundfläche aus erfolgt, vorhanden. Es beginnt nun die allmähliche Bedeckung der Wunde mit den aufgelockerten Epithelmassen, die in 1—2 Tagen vollendet sein kann. Es ist verständlich, daß bei den tieferliegenden jüngeren Schichten des Epithels der Zusammenhang der Zellen ein nicht so fester ist wie bei den oberflächlichen, älter und stärker verhornten. Daher kommt es wohl, daß, wie die meisten Beobachter hervorheben, es in erster Linie die unteren Schichten sind, die sich in Bewegung setzen und zur ersten Bedeckung der Wundfläche dienen. Auch nach vollkommenem Verschluß der Wunde bleibt die Auflockerung noch längere Zeit bestehen. Inzwischen sind aber schon Zellteilungen aufgetreten, welche das Ihrige dazu beitragen, den Zellbestand des Epithels zu vermehren. Die Zellen schließen sich wieder fester zusammen, und so entsteht allmählich wieder ein normales Epithel.

Nach dieser Abschweifung auf ein allgemeineres Gebiet kehre ich zur Beschreibung der Regeneration bei den Manschettentieren zurück.

14 Tage nach der Amputation hat das Manschettenepithel wieder seine glatte feste Beschaffenheit angenommen, nur über der Wundfläche sind die Zellen noch nicht zu einem festen Gefüge zusammengeschlossen und von der Cutis unterlagert. Daß es sich auch hierbei um keine Degenerationserscheinung handelt, wird durch Schnitte durch den gleichaltrigen Regenerationsstumpf des entsprechenden normalen linken Beines bewiesen: auch hier ist nämlich eine deutliche Auflockerung des die Wunde bedeckenden Epithels vorhanden.

Je älter Manschette und Regenerat werden, desto schwerer sind die Grenzen der verschiedenen Epithelien auf Schnitten zu erkennen, wie z. B. in einem Falle 65 Tage nach der Amputation. Aus dem Protokoll ist ersichtlich, daß die Manschette hier sehr gut angewachsen war. Als etwas über drei Monate nach der Transplantation das Bein abgeschnitten wurde, war die Manschette sehr dunkel, aber von ihrer Umgebung scharf zu unterscheiden. Zwei Monate später, als das Tier konserviert wurde, war aus dem Stumpf ein Fuß mit vier kurzen, nicht ganz regelmäßigen Zehen herausgewachsen. Die Manschette ist

noch etwas heller als die normale Haut. Außerdem ist sie durch ihre feinere Struktur von der grobnarbigen normalen Haut scharf zu unterscheiden. Es ist hier also kein Zweifel, daß im Moment der Konservierung die Manschette noch vorhanden war. Trotzdem lassen sich ihre Grenzen auf Schnitten nur sehr schwer durch aufmerksame Kombination der ganzen Schnittserie feststellen. Der sonst so charakteristische proximale Verwachsungswulst fehlt fast vollkommen, und auch die Cutis geht ohne Unterbrechung aus dem Bereich der normalen Haut in den der Manschette über. Die distale Grenze tritt etwas deutlicher hervor, wird außerdem dadurch gekennzeichnet, daß in ihrem Bereich, d. h. unterhalb des Kniegelenks an das erhalten gebliebene proximale Stück des Knochens ein knorpelig vorgebildetes des Regenerates sich ansetzt. Das Regenerat ist von glattem, vielschichtigem Epithel bedeckt, das ebenso wie das der Manschette von feinverzweigten Pigmentzellen unterlagert wird, nur ist bei der Manschette die Pigmentierung eine viel stärkere.

Die Hautbedeckung des Regenerates bei den Taschentieren.

Der Vorgang der Implantation des Hinterbeines unter die Bauchhaut wird durch die Abb. 16 *a, b, c* erläutert, die schematische Längsschnitte durch das Bein darstellen (Abb. 16). Bei *a* ragt das enthäutete Bein, dem der Fuß amputiert ist, frei vor, die Bauchhaut ist noch in ihrer natürlichen Lage, tatsächlich aber schon von ihrer Unterlage losgelöst. Bei *b* ist das Bein ganz auf den Bauch geklappt und von der Bauchhaut bedeckt. Bei *c* ist ein pigmentiertes Regenerat herausgewachsen. An der Basis des Beines stoßen auf der Oberseite (in der Abbildung) pigmentierte Beinhaut (schwarz) und rote Bauchhaut (hell) zusammen. Wie bei den Manschettentieren bildet sich an dieser Grenzstelle meist ein Verwachsungswulst. Mitunter kam es vor, daß die Hautränder sich nicht zusammenbringen ließen und durch einen größeren Zwischenraum getrennt blieben. Dann wurde diese hautfreie Stelle durch von den Wundrändern vordringende Epithelzellen, hauptsächlich von der basalen Beinhaut her, in wenigen Tagen geschlossen. Nach vollendeter Operation liegt das enthäutete Bein der ebenfalls hautfreien Bauch-

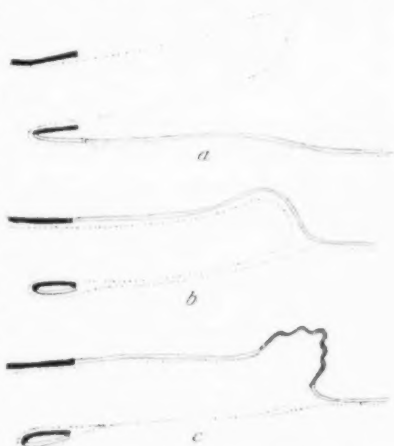


Abb. 16. Schematischer Längsschnitt durch das Bein eines Taschentieres.

decke glatt an, es tritt Verwachsung ein, und nach einiger Zeit ist mit Ausnahme der Verwachsungsfläche das Bein fast vollkommen von glatt anliegender Bauchhaut überzogen. Nur an der Basis kann das Bein nicht an den Bauch anwachsen, und hier geht die pigmentierte Beinhaut in die Bauchhaut über. Auf Längsschnitten findet man daher an dieser Stelle einen scheinbar geschlossenen Hohlraum, der von äußerer Haut ausgekleidet ist. Tatsächlich steht er aber seitlich mit der Außenwelt in Verbindung.

Der normale Verlauf war nun, daß einige Tage nach der Operation über der Spitze des Implantats in der Haut sich eine kleine Öffnung bildete. Bald nachher schließt sich die Wunde wieder, und an dieser Stelle wächst durch Regeneration ein neuer Fuß hervor. Die prinzipielle Bedeutung des Auftretens des Durchbruches für die Hautbedeckung des Regenerates habe ich schon früher erwähnt. Neuerdings hat *v. Ubisch* (Nr. 16, 1922) auch auf seine Bedeutung als Beispiel einer abhängigen Differenzierung hingewiesen.

Von großem Interesse ist nun die Frage: wie kommt es zur Bildung eines Loches, das sicher für die späteren Neubildungen von Bedeutung ist? Man könnte zunächst an eine rein mechanische Durchbrechung denken. Die Spitze des Implantates übt anfangs auf die darüberliegende Haut sicher einen ziemlich beträchtlichen Druck aus. Dadurch könnten die davon betroffenen Zellen nekrotisch werden, so daß die Durchbrechung leicht erfolgen kann. Dem widerspricht, daß ich einige Male beobachten konnte, daß der Durchbruch nicht genau an der Stelle erfolgte, wo die Haut am stärksten vorgewölbt war, also an der Stelle der stärksten Spannung, sondern etwas seitlich. Außerdem ist das Loch meist viel kleiner als der durch das Ende des Stumpfes vorgewölbte Bezirk der Haut. Ein ähnlicher Fall von Lochbildung liegt in dem Durchbrechen des Operculums durch die vorderen Gliedmaßen bei den Anurenlarven vor. Wie *Braus* (Nr. 2, 1906) gezeigt hat, ist aber auch diese Erscheinung nicht rein mechanisch zu erklären, denn nach Entfernung der Gliedmaßenanlage, also nach Wegfallen des Druckes, tritt das Loch im Operculum trotzdem auf. Wenn wir also eine Zurückführung des erwähnten Durchbruches auf *rein* mechanische Ursachen entschieden ablehnen müssen, so wird sich nicht leugnen lassen, daß nach einmal aus anderen Ursachen erfolgter Bildung eines kleinen Loches dieses durch den von der Spitze des Transplantates ausgeübten Druck leicht vergrößert werden kann. Ich glaube, daß die *erste* Ursache der Lochbildung in den bei jeder beginnenden Regeneration an der Spitze des Stumpfes auftretenden Resorptionsprozessen zu suchen ist. Dadurch kann nicht nur das Ende des Knochens, sondern z. T. auch die ihn jetzt neu überziehende Haut »eingeschmolzen« werden. Der Ort dieses Vorganges

braucht nicht unbedingt an der Spitze der stärksten Vorwölbung der Haut gelegen zu sein, sondern kann auch zufällig dicht daneben liegen, und hier erfolgt dann der Durchbruch. Diese Annahmen stimmen gut mit meinen oben erwähnten Beobachtungen und Vorstellungen überein. Wenn an einer Wundfläche Hormone auftreten, die das anliegende Epithel zur Auflockerung bringen, so ist es wahrscheinlich, daß sie auch auf ein frisch darüber gespanntes Epithel einwirken können, wenn auch vielleicht nicht in demselben Maße. Ist dieses der Fall, so wird es infolge der Auflockerung und der beginnenden Resorption zur Bildung eines Loches kommen, wobei mechanische Einflüsse natürlich auch mitwirken können.

Die Untersuchung auf Schnitten war recht mühsam und zeitraubend, weil infolge der Größe der Objekte die Serie meist auf 8 bis

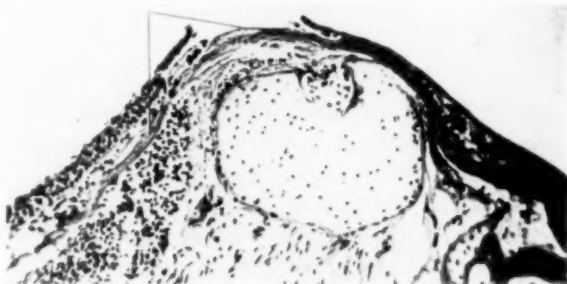


Abb. 17. Objekt Nr. 332. *Alpestris*-Taschentier. Tage nach der Operation. Das Epithel über der Spitze des Implantats ist abgestoßen, die Cutis noch erhalten.

10 Objektträgern untergebracht werden mußte. Die jüngsten untersuchten Stadien haben das Alter von 4, 7, 11, 13, 15, 22, 24 Tagen. Von dem 4 Tage alten Objekt heißt es im Protokoll: »Durchbruch nicht sichtbar, vielleicht angedeutet; an der Spitze des Implantats ganz schwacher, etwas heller Höcker.« Schnitte zeigen, daß die Bildung des Loches begonnen hat (Abb. 17); das Epithel über der Spitze ist abgestoßen, an den Rändern bildet es nur eine dünne Schicht, die Auflockerung zeigt (Abb. 17). Die Cutis überzieht ganz glatt die Spitze und zeigt nirgends eine Öffnung. Nur dort, wo das Epithel fehlt, zeigt sie eine stärkere Auffaserung, die wohl den Beginn ihrer Auflösung andeutet. Das Protokoll des 7tägigen Tieres am Tötungstage lautet: »Über der Spitze des Implantats kleiner deutlicher Durchbruch, jedenfalls in den oberen Schichten des Epithels.« Die Schnittuntersuchung zeigte, daß die zweite Hälfte dieses Satzes, durch welche die erste abgeschwächt wird, den eigentlichen Tatbestand deckt, denn tatsächlich war der Durchbruch noch kein vollkommener, sondern an einer begrenzt-

ten Stelle war das Epithel oberflächlich geborsten und abgestoßen, während die unteren Schichten noch erhalten waren. Die Cutis war überall noch vorhanden. Ich möchte aus diesen beiden Fällen noch nicht mit Sicherheit den Schluß ziehen, daß die Lochbildung immer mit der Auflösung des Epithels beginnt, denn an dem 13tägigen

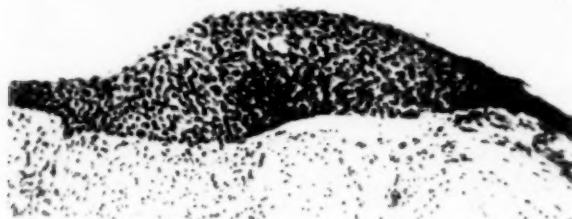


Abb. 18. Objekt Nr. 112. *Alpestris*-Taschentier. 22 Tage nach der Operation. Der Durchbruch über der Spitze des Implantats ist wieder durch mächtige, lockere Epithelmassen (Regenerationshöcker) geschlossen, unter denen noch keine Cutis ist. Etwas weiter nach links oder rechts ist unter dem normalen Epithel wieder Cutis vorhanden.

Präparat finde ich umgekehrt, daß die Cutis über der Spitze des Implantats ganz dünn geworden, ja fast vollkommen geschwunden ist, während das Epithel noch heil ist. In jedem Falle findet schließlich die Durchbrechung beider Schichten statt, und dadurch sind, wie früher beschrieben, die Bedingungen für die nun auftretenden Neu-

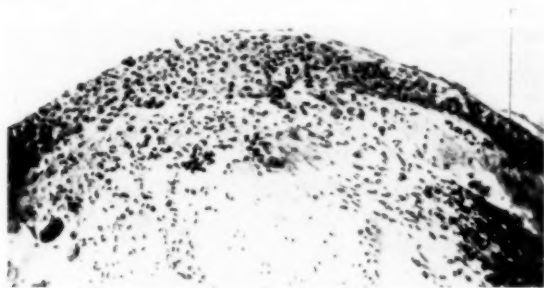


Abb. 19. Objekt Nr. 97. *Alpestris*-Taschentier. 24 Tage nach der Operation. Ähnlich wie das vorige Objekt. Durchbruch geschlossen. Regenerationshöcker schwächer entwickelt, von keiner Cutis unterlagert. Rechts kommt die Cutis etwas zum Vorschein.

bildungen geschaffen. Von den Rändern des Epithels her findet nun der Verschuß des Durchbruches statt, und bald ist die frühere Wunde von neu gebildetem Epithel überzogen. Teils durch Nachschub von seiten des alten Epithels, teils durch Zellvermehrung kommt es zu einer beträchtlichen Anhäufung von Epithelzellen über der Wunde, an deren Stelle sich jetzt ein kleiner heller Höcker erhebt — das erste äußere Anzeichen beginnender Regeneration (Abb. 18 und 19;

22 und 24 Tage nach der Operation). Obgleich das Objekt von Abb. 18 das jüngere ist, hat es doch einen größeren Regenerationshöcker. Ebenso, wie der Wundverschluß nach Amputation einer Extremität zuerst nur vom Epithel aus erfolgt, nimmt auch hier die Cutis vorläufig nicht daran teil. Wahrscheinlich erst viel später, beim heranwachsenden Regenerat, erfolgt Neubildung der Cutis. An einem 60 Tage alten Regenerat mit Zehenanlagen ist unter dem mehrschichtigen Epithel, das ungefähr doppelt so dick ist wie das normale, die Cutis fast noch gar nicht entwickelt. Die Phalangen sind hier — durch die Konzentration der Kerne angedeutet — schon deutlich angelegt. Das Pigment ist in Form einer fast zusammenhängenden Schicht verästelter Pigmentzellen unter der Epidermis entwickelt. Außerdem sind im Epithel reichlich Pigmentkörnchen und vereinzelte Pigmentzellen vorhanden. Das Vorhandensein von Pigment an einer Stelle, die von den übrigen pigmentierten Orten durch einen breiten Streifen roter Bauchhaut getrennt ist, läßt nur an eine Entstehung des Pigments in loco denken.

Da ich kurz vor meiner Übersiedelung nach Riga stehe, um einem Rufe an das deutsche Herderinstitut zu folgen, sehe ich mich genötigt, die Resultate meiner Untersuchungen schon jetzt zu veröffentlichen, obgleich manches noch zu vervollständigen wäre. So konnte unter anderem auf die interessante Frage der Entstehung und der Verteilung des Pigmentes, für die aber noch eine Reihe zeitraubender Experimente nötig gewesen wäre, nicht näher eingegangen werden.

Heidelberg, im August 1922.

Literaturverzeichnis.

1. Barfurth, D., Zur Regeneration der Gewebe. Arch. f. mikr. Anat. 37, 1891. — 2. Braus, H., Vordere Extremität und Operculum bei *Bombinator*-Larven. Ein Beitrag zur Kenntnis morphogener Korrelation und Regulation. Experim. Beitr. z. Morphol. 1. 1906. — 3. Carrel, A., Die Kultur der Gewebe außerhalb des Organismus. Berl. klin. Wochenschr. 1911. — 4. Cole, W. H., The transplantation of skin in frog tadpoles, with special reference to the adjustment of grafts over eyes, and to the local specificity of integument. Journ. Exper. Zool. 35. 1922. — 5. Fraisse, P., Die Regeneration von Geweben und Organen bei den Wirbeltieren, besonders Amphibien und Reptilien. Kassel-Berlin 1885. — 6. Fritsch, C., Experimentelle Studien über Regenerationsvorgänge des Gliedmaßenskeletts der Amphibien. Zool. Jahrb. Abt. allgem. Zool. u. Phys. 30. 1911. — 7. Haberlandt, G., Zur Physiologie der Zellteilung. 6. Mitteilung. Über Auslösung von Zellteilungen durch Wundhormone. Sitz.-Ber. d. preuß. Akad. d. Wiss. 1921. — 8. Ders., Wundhormone als Erreger von Zellteilungen. Beitr. z. allgem. Botanik. 2. 1921. — 9. Ders., Über Zellteilungshormone und ihre Beziehungen zur Wundheilung, Befruchtung, Parthenogenesis und Adventivembryonie. Biol. Zentralbl. 42. 1922. — 10. Oppel, A., Über die

- Kultur von Säugetiergeweben außerhalb des Organismus. Anat. Anz. 40. 1912. — 11. Ders., Kausalmorphologische Zellstudien. V. Mitteilung. Die aktive Epithelbewegung, ein Faktor beim Gestaltungs- und Erhaltungsgeschehen. Arch. f. Entw.-Mech. 35. 1913. — 12. Schaxel, J., Untersuchungen über die Formbildung der Tiere. Erster Teil: Auffassungen und Erscheinungen der Regeneration. Arb. aus d. Geb. d. experim. Biologie, herausgeg. v. Prof. Schaxel. Berlin, Bornträger, 1921. — 13. Schöne, G., Die heteroplastische und homöoplastische Transplantation. Berlin, Springer, 1912. — 14. Spemann, H., Die Erzeugung tierischer Chimären durch heteroplastische Transplantation zwischen *Triton cristatus* und *taeniatus*. Arch. f. Entw.-Mech. 48. 1921. — 15. Taube, E., Regeneration mit Beteiligung ortsfremder Haut bei Tritonen. Arch. f. Entw.-Mech. 49. 1921. — 16. v. Uebisch, L., Über die Harmonie des tierischen Entwicklungsgeschehens. Naturwissenschaften. 10. 1922.

Studien zur künstlichen Entwicklungserregung des Froscheies.

II. Experimenteller Beitrag zur künstlichen Entwicklungserregung des Froscheies durch mechanische Einwirkung.

Von

Dr. med. Hermann Voss.

Prosektor am anatomischen Institut in Rostock.

(Eingegangen am 28. September 1922.)

Einleitung.

Während die Untersuchungen über künstliche Entwicklungserregung durch chemische Mittel, begonnen mit den bahnbrechenden Experimenten *J. Loeb's*, zahlreich und kaum noch zu übersehen sind, ist das Gegenteil der Fall mit den Untersuchungen, bei denen als entwicklungs-erregender Reiz einfache mechanische Mittel, wie Druck, Stich, Schütteln u. a., Anwendung fanden. Allerdings hat sich gerade der erste Untersucher über die künstliche Parthenogenese, *Tichomirow*, eines solchen mechanischen Mittels bedient. *Tichomirow* (10) nämlich rieb die Eier von *Bombyx mori*, die sich teilweise parthenogenetisch entwickeln können, zum größeren Teil aber der Befruchtung bedürfen, mit einer Bürste und suchte dadurch den Prozentsatz der sich parthenogenetisch entwickelnden Eier zu vergrößern. *Mathews* (7) hat unbefruchtete See-sterneier durch Bespritzen mit einer Pipette zur Entwicklung gebracht, *Fischer* (6) auf ähnliche Weise die Eier von *Amphitrite*. Ferner hat *Meltzer* (8) die Eier von *Arbacia* durch Schütteln zur Entwicklung angeregt. Er beobachtete, daß eine kleine Anzahl von Eiern sich teilten, aber nur das 2- und 4-Zellstadium, selten das 8-Zellstadium erreichten. Zweifellos gehört auch die traumatische Parthenogenese des Froscheies von *Bataillon*, über die ich bereits in meiner ersten Mitteilung ausführlich berichtet habe, in diese Kategorie der künstlichen Entwicklungserregung. Während ich in meiner ersten Mitteilung einen Beitrag zur Kenntnis des »zweiten Faktors« der traumatischen Parthenogenese zu liefern suchte, möchte ich hier über einige Versuche berichten, die meines Erachtens dazu dienen können, uns über das Wesen des ersten Faktors, der »activation« *Bataillons*, neue Aufschlüsse zu geben. Daß dieser erste Faktor, der in dem Anstich des Eies mit einer feinen Nadel besteht und die Entwicklungserregung des Eies bewirkt, mechanischer Art ist, wird wohl von niemand bezweifelt werden. So ist er denn auch von *Bataillon* und anderen mit den Worten »mechanischer Reiz«

abgetan worden. Schon früher habe ich (11) betont, daß damit so gut wie nichts über das eigentliche Wesen dieses ersten Faktors ausgesagt ist. Zu seiner weiteren Analyse schien mir die Beantwortung folgender Fragen wichtig: Ist das Wesentliche hierbei das Trauma, die Verletzung des Eies oder nur die mechanische Wirkung, der Druck, der bei oder vor dem Eindringen der Nadel auf das Ei ausgeübt wird? Als ein weiterer Beweggrund, diese beiden Fragen zu beantworten, kam noch hinzu, daß in neuester Zeit von *Haberlandt* (2) dem Trauma und den dadurch verursachten »Wundhormonen« eine ganz besondere Rolle bei der Entwicklungserregung zugeschrieben wurde. Dieses ausschlaggebende Trauma sollte bei der natürlichen Entwicklungserregung durch das Spermium, bei der künstlichen durch das traumagebende Instrument hervorgerufen werden. Die Entscheidung, welche von den beiden obigen Fragen zu bejahen, welche zu verneinen sei, mußte sich leicht treffen lassen, wenn es gelang, durch mechanische Einwirkung ohne gleichzeitige Verletzung das Ei zur Entwicklung anzuregen. Die folgenden Zeilen sollen über solche Versuche berichten.

Eigene Versuche und ihre Ergebnisse.

Die Versuche wurden im Frühjahr dieses Jahres an Eiern von *Rana fusca* angestellt. Reife, unbefruchtete Eier wurden dem Uterus eines in Copula befindlichen Weibchens nach der in Mitteilung I näher angegebenen Methode entnommen und mit einem kleinen Hornlöffel auf einen Objektträger verteilt. Bei dieser Verteilung mußte vor allem darauf geachtet werden, daß die Eier nur in einer Schicht und möglichst nahe beieinander lagen, am besten so nahe, daß überhaupt kein freier Raum zwischen ihnen vorhanden war. Aus welchem Grunde hierauf Wert gelegt werden mußte, wird aus dem Folgenden hervorgehen. Die so verteilten Eier wurden dann mit einem Hornlöffel von 10,9 g Gewicht vorsichtig geschlagen, indem man ihn zwischen Daumen und Zeigefinger haltend, leicht federnd auf die Eier fallen läßt. Beim ersten Versuch hatte ich die Eier mit einem Pinsel gestoßen, diese mechanische Einwirkung genügte aber nicht. Natürlich ist diese Methode eine recht rohe, aber man erreicht mit ihr das, worauf es ankommt. Durch das Schlagen werden selbstverständlich immer einige Eier verletzt, besonders wenn sie mehr vereinzelt auf dem Objektträger liegen. Deshalb betonte ich schon, daß die Eier möglichst dicht beieinander liegen sollen. Dann verteilt sich der Druck auf eine größere Anzahl von ihnen, die bei dem betreffenden Schlag von der breiten Fläche des Löffels getroffen werden. Bei einiger Übung weiß man die Stärke der Schläge recht gut zu regulieren. Nach dem Schlagen werden dann die Objektträger mit den Eiern in Glasgefäße mit Leitungswasser getan. Die geschlagenen Eier verhalten sich genau so wie die mit einer feinen

Glasnadel einfach angestochen (s. Mitteilung I). Die perivitelline Flüssigkeit tritt auf, und nach 40—60 Minuten drehen sie ihren weißen Pol nach unten. Ungefähr 5 Stunden nach dem Schlagen sieht man folgendes: Eine Anzahl der Eier ist durch das Schlagen zertrümmert worden. Von den unverletzten Eiern zeigen einige aufs deutlichste jene Abplattung am dunklen Pol, auf deren Bedeutung als einem der ersten äußeren Zeichen der Entwicklungserregung ich schon in meiner ersten Mitteilung ausführlich hingewiesen habe. Nur eine sehr geringe Zahl von Eiern zeigt Furchungen. Der Verlauf der Furchen ist genau so wie bei den einfach angestochenen Eiern. Die Furchen sind oberflächlich und besonders zahlreich am dunklen Pol, kommen aber auch am hellen vor. Mit dieser »abortiven Segmentierung« (*Herlant*) scheint die Entwicklung der Eier beendet zu sein. Bisher habe ich wenigstens keine weiteren Entwicklungsstadien beobachten können. Nur der Vollständigkeit halber will ich noch erwähnen, daß Uteruseier, die man einfach in Leitungswasser bringt, niemals irgendwelche Zeichen der Entwicklungserregung aufweisen. Folgende Tabelle gibt eine Übersicht über die Versuche dieses Frühjahrs.

| Versuch | Datum | Zahl der Eier | Zahl der Eier mit Zeichen der Entwicklungserregung | Bemerkungen |
|---------|----------|---------------|--|--|
| Ia | 25. III. | 44 | 2 | mit einem Pinsel gestoßen |
| Ib | " | 73 | 10 | mit einem Hornlöffel geschlagen |
| II | 27. III. | 45 | 6 | |
| III | 6. IV. | 64 | 12 | |
| IV | 7. IV. | 214 | 21 | |
| V | 8. IV. | 142 | 18 | |
| VI | 9. IV. | 121 | 3 | weniger stark geschlagen |
| VII | 10. IV. | 25 | 10 | |
| VIII | 11. IV. | 52 | 18 | bei Versuch VII und VIII wurde nur die Zahl der unverletzten Eier mit und ohne Zeichen der Entwicklungserregung festgestellt |

Besprechung der Ergebnisse.

Durch diese Versuche ist also bewiesen, daß das Froschei auch ohne irgendeine Verletzung zur Entwicklung angeregt werden kann. Nur von praktischer, nicht prinzipieller Wichtigkeit ist es, daß diese Entwicklung nur eine abortive ist und nicht so weit führt wie die bei manchen angestochenen Eiern. Durch die Untersuchungen *Herlants* (4) wissen wir ja, warum der Eikern allein keine oder mindestens keine regelmäßige Furchung zustande bringen kann, und wodurch über-

haupt eine weitergehende Entwicklung angestochener Eier ermöglicht wird (s. Mitteilung I). Wir haben mit diesen Versuchen auf die beiden obigen Fragen: Ist das Wesentliche bei der traumatischen Parthenogenese das Trauma oder nur die mechanische Wirkung, die bei oder vor dem Eindringen der Nadel auf das Ei ausgeübt wird? eine unzweideutige Antwort bekommen. Das Trauma ist nicht das Wesentliche bei der Entwicklungserregung durch Anstich, sondern die mechanische Einwirkung, die durch den Druck der Nadel auf das Ei ausgeübt wird. Hieraus ergibt sich nun auch eine Ablehnung der schon oben kurz erwähnten Ansicht *Haberlandts*, auf die ich jetzt noch etwas näher eingehen will. *Haberlandt* (2, 3) hat festgestellt, daß an Schnittflächen der Kohlrabiknolle, die mit Plasmaresten von verletzten Zellen oder »mit einer dünnen Schicht von Gewebeflüssigkeit überzogen waren«, bedeutend mehr Zellteilungen stattfanden als an Schnittflächen, bei denen durch Abspülen alle Zellreste entfernt wurden. *Haberlandt* erklärt diese Tatsache dadurch, daß »gewisse Zersetzungsprodukte der getöteten und verletzten Zellen«, die er kurz als »Wundhormone« bezeichnet, teilungsauslösend wirken. Ferner hat *Haberlandt* Blüten von *Oenothera Lamarckiana* »durch einen Schnitt 3—5 mm über der Röhre der Blütenknospe« kastriert und dann die kastrierten Fruchtknoten resp. Samenanlagen entweder gequetscht oder mit einer feinen Nadel angestochen. Besonders bei letzterer Methode konnte *Haberlandt* die Entstehung von »monströsen oder typisch gestalteten Adventivembryonen« beobachten, deren Bildung ohne Zweifel durch die mechanische Verletzung des Fruchtknotens bedingt war. Weitere Einzelheiten hierüber müssen in der Originalarbeit nachgelesen werden. Was uns hier vor allem interessiert, sind die Schlußfolgerungen, die *Haberlandt* aus seinen sehr interessanten und zweifellos exakten Untersuchungen zieht. *Haberlandt* ist der Ansicht, daß auch bei der Entwicklungserregung des tierischen Eies »Wundhormone« eine ausschlaggebende Rolle spielen. Bei der natürlichen Entwicklungserregung sollen sie durch die Verletzung des Eies durch das Spermium entstehen, bei der künstlichen, speziell traumatischen Parthenogenese durch die Verletzung des Eies mit einer feinen Nadel. Dieser Ansicht *Haberlandts* kann ich nicht zustimmen, da sie nicht für alle Arten der Entwicklungserregung, sowohl der natürlichen wie der künstlichen, zutrifft, denn es gibt doch noch eine Reihe von entwicklungserregenden Mitteln, deren Wirkung zweifellos nicht auf einer Verletzung des Eies und der Bildung von »Wundhormonen« beruht. Ich erinnere hier nur an die natürliche Parthenogenese, ferner an die durch chemische Mittel bewirkte künstliche. Wo ist dort das Trauma, woher sollen also die »Wundhormone« kommen? Um dies zu erklären, nimmt *Haberlandt* noch eine neue Art von Reizstoffen, die »Nekrohormone« zur Hilfe. Sie sollen sowohl bei der habituellen

Adventivembryonie als auch bei der natürlichen Parthenogenese der Pflanzen eine entwicklungsanregende Rolle spielen. »Sie lösen die Entwicklung der unbefruchteten Eizelle aus und regen sie zur Teilung an. Diese Nekrohormone müssen der Eizelle aus ihrer Umgebung zugeführt werden . . . Unter ‚Nekrohormonen‘ verstehe ich als Reizstoffe fungierende Zersetzungsprodukte von Zellen, die nicht infolge einer äußeren Verletzung, sondern spontan, aus inneren, uns unbekannten Gründen absterben« (*Haberlandt*, 3, S. 158). Mag diese Anschauung für die Pflanzen zutreffen, für die tierische Eizelle kann ich ihr nicht zustimmen. Wie sollen in einer einzelnen tierischen Eizelle, die entweder aus uns bisher noch ganz unbekannten Gründen (natürliche Parthenogenese) oder veranlaßt durch die Einwirkung irgendeines chemischen Agens (künstliche Parthenogenese) mit ihrer Entwicklung beginnt, solche »Wund- oder Nekrohormone« entstehen? Abgesehen davon, daß diese Stoffe bisher rein hypothetischer Natur sind. Demnach scheint mir diese Theorie der Entwicklungserregung von *Haberlandt*, obwohl sie auf Grund von sehr interessanten Beobachtungen entstanden ist, nicht ausreichend zu sein, da sie uns keine für alle Arten der Entwicklungserregung passende Erklärung gibt, und das ist ja letzten Endes der Prüfstein einer solchen Theorie. Auf das eigentliche Wesen der Entwicklungserregung will ich jetzt nicht weiter eingehen. Es sind darüber ja genügend Theorien und Hypothesen aufgestellt worden. (s. *Loeb*, *Delage*, *Fischer-Ostwald*, *Bataillon* u. a.). Besondere Schwierigkeit hat die Erklärung der Entwicklungserregung durch mechanische Einwirkung gemacht. In den meisten Theorien ist sie überhaupt nicht berücksichtigt worden¹⁾. Aber alle Theorien nutzen uns nichts, wenn sie nicht zugleich für diese Art der Entwicklungserregung eine Erklärung zu geben suchen. Es muß zugestanden werden, daß dies bisher noch recht schwierig ist, da wir über die morphologischen und physikalisch-chemischen Veränderungen in der Eizelle nach mechanischer Einwirkung sehr schlecht orientiert sind. Aufgabe weiterer Forschungen wird es sein, diese Vorgänge aufzuklären. Leider ist es mir noch nicht möglich gewesen, meine Versuchseier zytologisch zu untersuchen. Ich behalte mir solche Untersuchungen für das nächste Jahr vor, nachdem ich durch neue Versuche das Material hierfür vermehrt haben werde. Ich möchte diese Mitteilung nicht schließen, ohne auf eine weitere wichtige Folgerung, die sich aus meinen Versuchen ergibt, hinzuweisen. *Bataillon* analogisiert beim Vergleich der normalen Befruchtung mit der traumatischen Parthenogenese den Anstich des Eies durch das Spermium und den durch die Nadel. Dieser Ansicht

¹⁾ Die einzige, die hiervon eine Ausnahme macht, ist die *Fischer-Ostwald*-sche Theorie (s. Mitteil. I), die ich deswegen auch für die beste Theorie der Entwicklungserregung halte, die wir bis jetzt besitzen.

haben sich alle Biologen, die sich hiermit beschäftigt haben, angeschlossen. Nur ein Beispiel aus neuester Zeit für die Alleinherrschaft dieser Anschauung möchte ich anführen. *Bilski* (1, S. 640) schreibt: »*Jacques Loeb* hat durch chemische Einwirkung Entwicklung von unbefruchteten Eiern hervorgerufen. *Loeb* unterscheidet zwischen dem Befruchtungs- und Vererbungsvorgang. Er glaubt, daß durch das Spermium abgesehen von der Vererbungsmasse ein chemischer Katalysator in das Ei getragen und dadurch die Entwicklung eingeleitet werde. Dagegen spricht die Erzeugung von Froschlarven auf parthenogenetischem Wege durch Anstich mit einer Platinnadel nach *Bataillon*, wodurch gezeigt wird, daß die Aufgabe des Spermiums eine rein mechanische ist.« Auch ich war bisher dieser Meinung, denn dieser Vergleich lag außerordentlich nahe, und nichts sprach dagegen. Beiden Vorgängen liegt ein Trauma zugrunde, das die Ursache der Entwicklungserregung sein soll, und daraus resultiert ihre Gleichsetzung. Jetzt kann ich diese Ansicht nicht mehr teilen. Denn nachdem wir gesehen haben, daß die Verletzung als solche bei der traumatischen Parthenogenese nicht die Ursache der Entwicklungserregung sein kann, so kann sie auch bei der normalen Entwicklungserregung durch das Eindringen des Spermiums keine Rolle spielen. Man könnte noch weiter an der Gleichsetzung beider Vorgänge festhalten mit der Begründung, daß das Gemeinsame die durch mechanische Einwirkung verursachte Entwicklungserregung sei. Hiergegen möchte ich folgendes einwenden. Ich kann mir wohl vorstellen, daß die Nadel durch die sicherlich beträchtliche Erschütterung des Eies beim Anstich so auf seine physikalisch-chemische Konstitution einwirkt, daß das ganze Spiel der Vorgänge dadurch in Gang gebracht wird, die wir unter dem Namen Entwicklungserregung zusammenfassen. Eine solche mechanische Wirkung wie die Nadel kann das Spermium, das allmählich und nicht mit einem plötzlichen Ruck in das Ei eindringt, unmöglich ausüben. Dagegen spricht schon das außerordentliche Mißverhältnis der Massen dieser beiden Körper, der Eizelle und des Spermiums, deren Volumina sich nach einer ungefähren Berechnung beim Frosch wie 1 : 100 000 000 verhalten. Viel näherliegend ist wohl die Erklärung, daß hier die Entwicklungserregung verursacht wird durch das Zusammentreffen einer »lebenden Substanz« mit einer anderen, die dann beide infolge ihrer sie kennzeichnenden Labilität so aufeinander einwirken, daß sie die Energie liefern für alles das, was die Entwicklung eines neuen Individuums einleitet, wie z. B. Bildung der Dottermembran oder Austreibung der perivitellinen Flüssigkeit, Aufbau der Strahlenfigur, Wanderung der beiden Keimkerne u. a. Demnach muß die entwicklungserregende Wirkung des Spermiums eine chemische oder besser noch physikalisch-chemische sein, eine Ansicht, die schon im Jahre 1908 von *Loeb* ausgesprochen wurde. Allerdings faßt *Loeb* unter den Begriff

der Entwicklungserregung Vorgänge, die meines Erachtens nicht mehr dazu gehören. »Das Spermatozoon übt zwei Arten von Wirkungen auf das Ei aus; erstens regt es die Entwicklung an und zweitens überträgt es die väterlichen Erbstoffe. Wir wollen uns hier nur mit der entwicklungserregenden Wirkung befassen. Fragen wir nun, was die auffallendste chemische Wirkung des Spermatozoons auf das Ei ist, so müssen wir gestehen, daß es eine rasche Synthese von Nukleinstoffen aus Zytoplasmastoffen ist« (Loeb, 5, S. 2). Will man — und zwar ganz mit Recht — am normalen Befruchtungsvorgang zwei Hauptphasen unterscheiden: die Entwicklungserregung und die Übertragung der väterlichen Erbmasse durch die Amphimixis, so muß man auch eine scharfe Trennung dieser beiden Phasen vornehmen. Diese scheint mir am besten gegeben durch den Beginn der Amphimixis. Alles, was vorher geschieht, begonnen mit der Berührung des Eies durch ein Spermium, gehört zur ersten Phase, zur Entwicklungserregung, alles, was nachher geschieht, zur zweiten. Demnach kann ich Loeb nicht zustimmen, wenn er die Nukleinsynthese, die doch erst nach der Amphimixis beginnt, zur Entwicklungserregung hinzurechnet. Kehren wir nach dieser kurzen Abschweifung wieder zu dem Vergleich zwischen dem Anstich mit einer Nadel und dem durch ein Spermium zurück. Beiden Vorgängen ist gemeinsam, daß sie als entwicklungserregender Reiz auf das Ei wirken. Nun müssen wir aber bei genauerer Analyse des Reizbegriffes mit Roux unterscheiden einen Auslösfaktor, der »nur den Anlaß zum Geschehen gibt und damit auch die Zeit und meist den Ort, ausgenommen bei elektiver Wirkung, nicht aber die Größe und Eigenschaft des Geschehens bestimmt« (Roux, 9, S. 319), und den eigentlichen Reizfaktor, der »mit seiner Zeit und mit seinem Ort, auch noch Zeit und Ort sowie als Hauptsache außerdem die Größe des Geschehens mitbestimmt« (Roux). Der Anstich mit der Nadel ist reiner Auslösfaktor; er führt dem chemischen Potential im Ei keine gleichgeartete Energie zu. Er wirkt wie der Funke auf das Pulver. Der Anstich durch das Spermium dagegen führt dem Ei ein gewisses, wenn auch verhältnismäßig kleines Quantum chemischer Energie zu und bestimmt damit auch die Größe des Geschehens, wirkt also als ein echter Reizfaktor.

Zusammenfassung.

1) Das reife unbefruchtete Ei des Frosches (*Rana fusca*) kann nicht nur durch eine Verletzung (traumatische Parthenogenese *Bataillons*), sondern auch durch andere mechanische Einwirkungen ohne Verletzung zur Entwicklung angeregt werden.

2) Die auf solche Weise in Gang gesetzte Entwicklung geht nicht über die allerersten Anfangsstadien (Furchungen) hinaus und stimmt

in ihrem gesamten Verhalten vollkommen mit der einfach angestochener Eier überein.

3) Aus den Versuchen geht hervor, daß das Trauma als solches für die Entwicklungserregung bei der traumatischen Parthenogenese nicht als Ursache anzusehen ist, sondern der Druck oder die Erschütterung, die das Ei durch den Anstich mit der Nadel erleidet; ferner, daß entgegen der heute herrschenden Anschauung das Spermium nicht auf rein mechanische, sondern nur auf chemische Weise entwicklungs-erregend wirken kann und muß.

Literaturverzeichnis.

1. *F. Bilski*, Über Blastophthorie durch Alkohol. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 47 1921. S. 649. — 2. *G. Haberlandt*, Zur Physiologie der Zellteilung: Über Auslösung von Zellteilungen durch Wundhormone. Sitzungsber. d. preuß. Akad. d. Wiss. 1921. — 3. Ders., Über Zellteilungshormone und ihre Beziehungen zur Wundheilung, Befruchtung, Parthenogenese und Adventivembryonie. Biol. Zentralbl. Bd. 42. 1922. S. 145. — 4. *M. Herlant*, Etude sur les bases cytologiques du mécanisme de la parthénogénèse expérimentale chez les Amphibiens. Archives d. Biologie. Bd. 28. 1913. — 5. *J. Loeb*, Über den chemischen Charakter des Befruchtungsvorgangs und seine Bedeutung für die Theorie der Lebenserscheinungen. Vortr. u. Aufsätze über Entw.-Mech. d. Org., herausg. von Roux, Heft 2. 1908. — 6. *M. H. Fischer*, Further Experiments on artificial Parthenogenesis in Annelids. Americ. Journ. of Phys. Bd. 7. 1902. S. 301. — 7. *A. P. Mathews*, Artificial Parthenogenesis produced by mechanical agitation. Americ. Journ. of Phys. Bd. 6. 1901. S. 142. — 8. *Meltzer*, Some observations on the effects of agitation upon *Arbacia* eggs. Americ. Journ. of Phys. Bd. 9. 1903. S. 244. — 9. *W. Roux*, Über die Flamme, Probioten und das Wesen des Lebens. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 51. 1922. S. 319. — 10. *Tichomirow*, Die künstliche Parthenogenese bei Insekten. Arch. f. An. u. Phys. 1886. — 11. *Voss*, Die beiden Hauptfaktoren der traumatischen Parthenogenese. Biolog. Zentralbl. Bd. 41. 1921.

Die Spätbefruchtung und deren Einfluß auf Entwicklung und Geschlechtsbildung. experimentell nachgeprüft an der Regenbogenforelle.

Von

Wilhelm Mršić.

(Aus dem Zoologischen Institut zu München.)

Mit 22 Textabbildungen und 7 Tabellen.

(Eingegangen am 19. Oktober 1922.)

Inhaltsübersicht.

| | Seite |
|---|-------|
| Einleitung | 130 |
| Spezieller Teil: Die Überreife der weiblichen Geschlechtszellen bei der Regenbogenforelle | 133 |
| I. Vorfragen | 133 |
| II. Versuchsanordnung und Material | 134 |
| III. Haltung und Fütterung der Kulturen | 136 |
| IV. Schicksal der Kulturen | 140 |
| 1. Sterblichkeit | 141 |
| 2. Freßlust und Verhalten | 143 |
| 3. Wachstum | 143 |
| 4. Entwicklung | 147 |
| a) Entwicklungsdauer | 147 |
| b) Entwicklungsstörungen | 148 |
| V. Entwicklung der Geschlechtszellen, Geschlechtsdifferenzierung und Geschlechtsverhältnis | 155 |
| A. Angaben anderer Autoren | 156 |
| B. Eigene Beobachtungen | 162 |
| 1. Mikroskopische Untersuchungen | 162 |
| a) Entwicklung und Differenzierung der Geschlechtsdrüsen | 162 |
| b) Umbildungen | 173 |
| 2. Makroskopische Untersuchungen | 183 |
| a) Lage, Größe und Gestalt der Gonaden | 184 |
| b) Geschlechtsverhältnis | 190 |
| VI. Praktische Folgerungen für die Fischzucht | 192 |
| Theoretische Erörterungen | 192 |
| I. Frühere Erklärungsversuche | 192 |
| II. Selektive Sterblichkeit | 193 |
| III. Neuere Untersuchungen | 194 |
| <i>R. Hertwig</i> (1920). | |
| <i>H. Eidmann</i> (1921). | |
| IV. Erklärungen nach dem heutigen Stand des Überreifeproblems . . | 197 |
| A. Indifferenz der Keimzellen | 197 |
| B. Ernährung der Keimzellen | 198 |
| 1. Die Resorption als schlechte Ernährungsform | 199 |
| 2. Die Arten der Resorption | 199 |

| | Seite |
|--|-------|
| 3. Die Wirkungen der Resorption | 199 |
| a) Änderung der Kernplasmarelation | 200 |
| b) Hormonale Wirkungen | 201 |
| V. Der Zeitpunkt der endgültigen Festlegung des Geschlechtes | 202 |
| Schlußbemerkung | 203 |
| Zusammenfassung der wichtigsten Resultate | 204 |
| Literaturverzeichnis | 206 |

Vorwort.

Die vorliegende Arbeit trug in der Hauptsache experimentellen Charakter. Ihre Durchführung war nur möglich mit Hilfe des großen Entgegenkommens, das dieselbe von Seiten der Herren Professoren und Doktoren am hiesigen Zoologischen Institut, sowie des Hofer-Instituts erfahren hat. In erster Linie sei mir deshalb gestattet an dieser Stelle Herrn Geheimrat Professor Dr. *Richard von Hertwig* für sein allzeit erwiesenes großes Interesse während des Verlaufes dieser Arbeit, sowie für seine vielen wertvollen Ratschläge zu danken. In gleicher Weise gilt mein Dank Herrn Professor Dr. *Demoll*, Vorstand der hiesigen biologischen Versuchsstation, und Herrn Dr. *Wohlgemuth*, Leiter der teichwirtschaftlichen Versuchsanstalt in Wielenbach, besonders auch für die freundliche Überlassung wertvollen Zuchtmaterials.

Einleitung.

Die Faktoren, die für die Geschlechtsbestimmung als ausschlaggebend in Frage kommen, sind mannigfacher Natur. Wohl ist an der Tatsache nicht zu rütteln, daß es in erster Linie die geschlechtsbestimmenden Chromosomen sind, durch die das Individuum, das aus der Vereinigung einer Eizelle und eines Spermatozoons hervorgeht, zum Männchen oder Weibchen gestempelt wird. Immerhin aber gibt es noch eine Reihe anderer Faktoren, die in die Entwicklung eingreifen und die Ausgestaltung des Geschlechtes in andere Bahnen als die ursprünglich festgelegten leiten können.

Solche Faktoren sind z. B. Nötigung zu parthenogenetischer Entwicklung, Herkunft der Elterntiere aus verschiedenen Gegenden (*R. Hertwig* 1912, *Correns* 1913), Rassenunterschiede (*Goldschmidt* 1920), Transplantation von Keimdrüsen (*Steinach*), besonders aber trophische Einflüsse. Und immer wieder findet man in der Literatur die Angabe, daß gute Ernährungsbedingungen das weibliche, schlechte das männliche Geschlecht begünstigen.

Man muß bei obigen Betrachtungen jedoch 2 Fälle scharf auseinanderhalten: Im ersten wird durch trophische Einflüsse das schon in Entwicklung und geschlechtlicher Differenzierung begriffene *Individuum selbst* beeinflusst und schließlich geschlechtlich umgestimmt, wie z. B. bei *Bonellia viridis*, wo auf die ursprünglich indifferenten Larven Ge-

legenheit zum Parasitismus und der Einfluß der aufgenommenen Nahrungssäfte des Wirtstieres männchen-, Nötigung zu freier Lebensweise durch Mangel an vorgenannter Gelegenheit weibchenbestimmend wirken, ja sogar bereits nach der einen Richtung in Entwicklung begriffene Individuen durch Änderung der angeführten Lebensbedingungen ihre Entwicklung noch in die gegenteilige Richtung umschlagen lassen können.

Doch sind solche Fälle im Tierreich nur sehr selten anzutreffen.

Im zweiten Falle werden nur die *Geschlechtszellen* des Elternindividuums infolge der Ernährung beeinflusst, so daß dann bei dessen *Nachkommen*, d. h. den aus diesen Geschlechtszellen sich entwickelnden Individuen, der Einfluß auf das Geschlecht sich geltend macht. Hermaphrodite Individuen (z. B. *Hydra*) sollen durch Ernährungsmodifikation zur Erzeugung der einen oder der anderen Geschlechtszellen bestimmt werden können; Tiere mit zyklisch parthenogenetischer und zweigeschlechtlicher Vermehrung (Aphiden, Daphniden usw.) werden durch reichliche Ernährung — hohe Temperatur — zu fortgesetzter Parthenogenese (Weibchenerzeugung), durch Hunger — Kälte — zur Erzeugung auch des männlichen Geschlechtes veranlaßt; weibliche Individuen schließlich dazu, daß in ihren Eierstöcken Eier entstehen, aus denen sich nach der Befruchtung vorwiegend weibliche, bzw. männliche Tiere entwickeln. Ob bei männlichen Individuen auch eine derartige Beeinflussung der Keimzellen möglich ist, ist fraglich; denn da durch die trophischen Einflüsse doch unbedingt in der Hauptsache das Plasma betroffen wird und erst durch dessen Einfluß dann im Laufe der Entwicklung das Chromatin, so können dieselben bei den doch nur mit sehr wenig Plasma versehenen Spermien wohl kaum so zur Geltung kommen wie bei den Eiern.

Jedenfalls wird wohl kein Forscher, der auf diesem Gebiete gearbeitet hat, die Tatsache leugnen, daß trophische Einflüsse, die auf den Stoffwechsel der Keimzellen einwirken, für deren geschlechtliche Tendenz in vielen Fällen ausschlaggebend sind.

Allerdings sind viele der älteren Versuche, die hierfür sprechen, nicht einwandfrei genug durchgeführt worden. So z. B. haben sich die Versuche von *Landois* (1867) und *M. Treat* (1873 und 1898) an Raupen als irrig erwiesen.

Die Versuche *Nussbaums* an *Hydra* (1892) und *Hydatina senta* (1897) fanden keine Bestätigung.

Die Experimente *Russos* (1909) an Kaninchen wurden widerlegt.

Doch gibt es noch eine Reihe von neueren Angaben, die immer wieder für die Wirkung trophischer Einflüsse auf die Geschlechtsbestimmung sprechen.

So ist es z. B. *O. Schultze* (1903) gelungen, durch Variieren von Nährlösungen die Entwicklung bald des einen, bald des anderen Geschlechtes bei Pflanzen zu begünstigen.

Versuche *Kowalewskis* (1911) mit in der Atmung gehemmten und ferner mit alkoholisierten Kaninchen ergaben ein Überwiegen der männlichen Geburten.

Eine Einwirkung der Keimernährung auf das Geschlecht zeigt auch die Entwicklung der Turbellarie *Dinophilus apatris* (*Nachtsheim* 1914), bei welcher die verschiedene Größe der Eier geschlechtsbestimmenden Einfluß ausüben soll.

Eine indirekte Stütze für die Ernährungshypothese könnte unter Umständen auch die statistisch nachgewiesene Tatsache bilden, daß bei Tot- und Fehlgeburten bei Menschen und Haussäugetieren der Überschuß des männlichen Geschlechtes ein sehr erheblicher ist. Mutterindividuen, die zu Fehl- und Totgeburten neigen, sind naturgemäß von schwächerer Konstitution. Der hohe Männchenüberschuß der Nachkommen würde demnach beweisen, daß gerade solch schwächliche Individuen Keimzellen besitzen, welche die Entstehung von Männchen begünstigen.

Zu den trophischen Einflüssen dürften auch die Temperatur — Kälte wirkt auf die Keimzellen ähnlich wie ungünstige Ernährung, Wärme wie günstige Ernährung — und chemische Einflüsse, wie sie z. B. von *H. King* untersucht wurden, zu rechnen sein.

Der Umstand ferner, daß das Geschlechtsverhältnis bei Menschen sowohl wie bei vielen anderen Wirbeltieren niemals 50 : 50 ist, läßt zwar viele Erklärungsmöglichkeiten zu, beweist aber jedenfalls, daß außer den geschlechtsbestimmenden Chromosomen, die ja bei alleiniger Geltung ein gleiches Geschlechtsverhältnis ergeben müßten, noch andere Faktoren für die Geschlechtsbestimmung am Werke sind.

Auch die Verschiebung des Geschlechtsverhältnisses bei Erstgeburten, oder durch das Alter der Erzeuger und die Einwirkung des Kohabitationstermines auf das Geschlechtsverhältnis (*Siegel* 1917) kann mannigfach interpretiert werden. Möglich, daß auch hier vielfach trophische Einflüsse in Frage kommen. Gewiß ist aber, daß auch in letzteren Fällen nicht die geschlechtsbestimmenden Chromosomen allein die Grundlage für das Geschlechtsverhältnis bilden.

Ein weiterer Faktor, der auf die Geschlechtsbildung von großem Einfluß ist und den man sehr wahrscheinlich auch zu den trophischen Einflüssen rechnen darf, ist der Reifegrad der Geschlechtszellen.

Bei Fröschen hatten die Untersuchungen von *R. Hertwig* (1905, 1906, 1907, 1912 und 1920), ferner diejenigen von *Kuschakewitsch* und außerdem diejenigen *H. Eidmanns* (1921) ergeben, daß durch die Überreife der weiblichen Geschlechtsprodukte das Geschlechtsverhältnis

der daraus hervorgegangenen Nachkommen zugunsten der Männchen verschoben wurde.

Die nachfolgenden Untersuchungen sollen auch an Fischen diese Frage nachprüfen.

Spezieller Teil.

Die Überreife der weiblichen Geschlechtszellen bei der Regenbogenforelle.

I. Vorfragen.

Der geschlechtsbestimmende Faktor also, mit welchem wir uns hier in der Hauptsache beschäftigen wollen, ist das relative Alter der Keimzellen.

R. Hertwig unterscheidet bei seinen Versuchen ovariale und uterine Frühreife bzw. Überreife. Die ovariale Früh- bzw. Überreife kann bei Fröschen dadurch erzielt werden, daß bei diesen das Platzen der Follikel durch die Umklammerung des kopulierenden Männchens hervorgerufen wird. Je nachdem man demnach ein Weibchen sehr früh oder sehr spät mit brünstigen Männchen kopuliert, die hierzu aus anderen Gegenden, in welchen die Brunst gerade statthat, beschafft werden können können nach Belieben ovarial früh- oder überreife Eier befruchtet werden. Auch künstlich durch Nachahmung der männlichen Umklammerung vermittelt Umschnürungen kann man zum gleichen Resultat kommen und dann künstliche Befruchtung durchführen.

Bei Fischen kommt nur die uterine Früh- bzw. Überreife in Betracht, da hier das Platzen der Eifollikel durch keine äußeren Einflüsse gefördert oder gehemmt werden kann. Auch *R. Hertwig* hat überdies die Hauptzahl seiner Froschversuche mit uteriner Überreife angestellt. Außerdem könnte man bei Fischen noch sozusagen eine extrauterine Überreife herbeiführen, indem man die Eier abstreicht und unbefruchtet ohne Wasserzusatz einige Zeitlang stehen läßt, sodann sie in verschiedenen Zeitabschnitten partienweise befruchtet. Forelleneier halten sich nach *O. Hertwig* in diesem Zustande 3 Tage lang befruchtungsfähig.

Auch die Temperatur war bei den Froschversuchen von Bedeutung, indem Kälte (10°C) metagam die sich entwickelnden Eier sehr zugunsten des männlichen Geschlechts beeinflusste. Bei Fischen ist über eine derartige Wirkung der Temperatur nichts bekannt, obwohl man andererseits über die Einwirkung der Temperatur auf die Entwicklungsdauer der befruchteten Fischeier sehr gut unterrichtet ist. Rechnet doch der Fischzüchter bei der Entwicklung der Fischbrut direkt mit Tagesgraden. Eine Forelle bedarf zu ihrer Entwicklung vom Ei bis zum fertigen Brutfischchen mit aufgezehrter Dotterblase 410 Tagesgrade, d. h. 410 Tage, wenn das Wasser 1°C als ständige Temperatur aufweist, also 205 Tage bei 2°C , 102 Tage bei 4°C ständiger Temperatur

usw. Das Optimum für *Salmo fario* soll zwischen 4 und 6° C liegen, d. h. es soll sich bei dieser Temperatur die lebensfähigste Brut entwickeln. Bei Cypriniden dauert die Entwicklung durchschnittlich bloß eine Woche und liegt naturgemäß das Temperaturoptimum auch viel höher.

Irgendwelche Wirkung der Kälte auf Salmonideneier, außer auf deren Entwicklungsdauer, dürfte demnach ziemlich unwahrscheinlich sein.

Eine weitere Schwierigkeit der Spätbefruchtungsversuche bei Fischen ist es, daß die Sexualitätsziffern nur ungenügend bekannt sind. Für *Cottus gobio* wird zwar die Zahl 188 angegeben, doch bezieht sich dieselbe auf gesammeltes Material und nicht auf Zuchtergebnisse. Genaue Beobachtung von Normalkulturen erscheint daher bei allen Versuchen notwendig.

II. Versuchsanordnung und Material.

Ich stellte bereits im Dezember 1920 in Wielenbach Versuche an Bachforellen an, die aber leider mißglückten. Es waren für mich 4 Rogner und 2 Milchner, jedoch leider schon mehrere Wochen vor Eintritt der Reife in einem Troge separiert worden. Dieser Umstand scheint sehr ungünstig eingewirkt zu haben.

Die Versuchsanordnung war folgende: Bei Eintritt der Reife wurden jedem Rogner ungefähr $\frac{1}{4}$ der Eiermenge abgestreift und dann die so gewonnenen Eier der 4 Fische mit der Milch eines zu diesem Zwecke besonders markierten Milchners befruchtet. Der zweite Milchner diente nur als Reserve, im Falle im Laufe der Versuche der erstere ungenügend Milch liefern würde. In Abständen von je einer Woche wurde diese Prozedur wiederholt, so daß beim vierten Mal alle Eier ausgestreift waren. Somit hatte die vierte Partie eine Überreife von 3 Wochen.

Die Forelle eignet sich ja einerseits zu solchen Versuchen besonders gut, da sich die Eier bekanntlich ohne jede Schwierigkeit aus dem Mutterkörper abstreifen lassen und man sie dann künstlich befruchten kann. Außerdem laichen diese Fische unter unnatürlichen Bedingungen nicht unerwünschterweise selbständig ab. Man kann also die Dauer der Überreife beliebig regulieren. Eine Überreife des Samens kommt bei meinen Versuchen nicht in Betracht. Bei der Befruchtung wurde immer dasselbe Männchen verwendet und wurde ihm zur Befruchtung jeder der verschiedenen Eierpartien stets die ganze Milch abgestreift, so daß dieselbe bis zur Befruchtung der nächsten Eierpartien erst wieder frisch gebildet werden mußte.

Bei den Kulturen, welche das Ergebnis obigen Experimentes waren, zeigte sich jedoch, daß schon die Eier der Normalkultur nach der ersten Woche 50% Verluste aufwiesen, eine ganz übermäßig hohe

Verlustziffer, die nur auf die nicht naturgemäße Absperrung der Laichfische zurückzuführen sein dürfte. Unter den abgestreiften Eiern der zweiten, dritten und vierten Partie zeigten sich in gesteigertem Maße Eier mit deutlichen Kennzeichen fortgeschrittener Resorption, so daß auch die Intervalle wohl etwas zu lang angesetzt waren. Bald nach Abschluß des Experimentes gingen die Mutterfische ein.

Anschließend möchte ich hier auch noch bemerken, daß es äußerst wichtig ist, die einzelnen Kulturen streng separiert voneinander zu halten. Nachdem mir nämlich für meine Kulturen aus Platzmangel nur zwei Brutkästen zur Verfügung standen, war ich genötigt innerhalb der Brutkästen Abteilungen vermittelt engmaschiger, verzinkter Drahtgitter herzustellen. Doch mußte ich die Erfahrung machen, daß die junge Brut eine bewundernswerte Fertigkeit besaß, sich auch durch scheinbar undurchlässige Spalten hindurchzuzwängen. Andere wieder blieben mit der Dotterblase darin hängen und gingen so zugrunde.

Das Resultat dieser Versuche war demnach nur die Erfahrung, daß die natürlichen Bedingungen möglichst gewahrt bleiben müssen, wenn man zum Erfolge kommen will, daß die Intervalle zwischen den einzelnen Befruchtungen reduziert werden mußten und ferner für strengste Separation der einzelnen Kulturen zu sorgen war. Die Versuche wurden somit abgebrochen und bis zum Eintritt der Laichreife der Regenbogenforellen gewartet. Es wurden wiederum vier Rogner und zwei Milchner, davon einer durch Beschneiden der Fettflosse, markiert, diesmal aber frisch aus dem Zuchtweiher entnommen und nach der oben angeführten Methode behandelt. Die Intervalle, in welchen die Eier abgestreift wurden, wurden verkürzt. Sie jedoch derart kurz anzusetzen, wie dies bei den Spätbefruchtungsversuchen geschah, die *R. Hertwig* an Fröschen vorgenommen hat, schien mir nicht ratsam, da nach verschiedentlichen Literaturangaben die Forelle auch in der Natur nicht auf einmal, sondern innerhalb 8 Tagen partienweise ablaichen soll, also demnach anzunehmen wäre, daß die Eier nicht alle gleichzeitig reifen, zum mindesten aber die Überreife langsamere Fortschritte macht als bei Fröschen. Auf diese in der Literatur immer wiederkehrende Behauptung werde ich später noch zurückkommen.

Jedenfalls aber dürfte die niederere Wassertemperatur im Vergleich zu den Froschkulturen von mäßigendem Einfluß auf den Fortschritt der Überreife sein. Leider geboten es die Umstände zum Zwecke der Separierung auch diesmal die Laichfische nach dem ersten Abstreifen in einem Troge auf die Dauer der Versuchsfolge aufzubewahren. Man könnte da immerhin einwenden, daß ev. Schädigungen der Eier nicht allein auf die Einwirkung der Spätbefruchtung zurückzuführen seien. Doch entstammten die Fische wenigstens zu Beginn

der Versuche vollständig natürlichen Bedingungen. Überdies diente ja zur Kontrolle die Normalkultur, deren Ergebnis, wie später ersichtlich, ganz den sonst üblichen Erfahrungen der Fischzucht entsprach.

Auch hier muß ich wieder bemerken, daß die Mutterfische nach Beendigung des Experimentes sämtlich eingingen.

Vorausschicken möchte ich dann noch, auf welche Weise die später angegebenen Eierzahlen gewonnen wurden: Die Eier gleich nach Befruchtung zu zählen ist nicht ratsam, da dieselben zunächst möglichst in Ruhe gelassen werden sollen. Die Zählung wurde somit erst nach dem jeweiligen Erscheinen der Augenpunkte bei den verschiedenen Partien gewonnen. Die bis zu diesem Zeitpunkte ausgelesenen toten Eier wurden bei jeder Partie genau registriert und zu der durch Zählen gewonnenen Anzahl hinzuaddiert.

III. Haltung und Fütterung der Kulturen.

Was die Wartung und Unterbringung des Versuchsmaterials betrifft, so war dieselbe naturgemäß bei allen 5 Kulturen gleich. Das Ausbrüten der Eier geschah in der Teichwirtschaftlichen Versuchsstation in Wielenbach in den bekannten *Schillingerschen* Apparaten. In der Zeit bis zum Ausschlüpfen erstreckte sich die Pflege lediglich auf das Auslesen und Registrieren der abgestorbenen Eier. Nach dem Ausschlüpfen, kurz vor Resorption des Dottersackes wurde mit der Verfütterung von etwas Plankton begonnen und sodann je eine Kultur, sobald sie freßfähig geworden war und den Dottersack resorbiert hatte, nach München in das Zoologische Institut transportiert. Hier wurden die Kulturen in großen Aquarien gehalten. Aus Gründen der leichteren Reinhaltung wurde davon abgesehen den Boden der Aquarien mit Sand zu bedecken; auch wurden keine Wasserpflanzen in die Aquarien eingesetzt. Peinlichste Reinhaltung der Aquarien ist überhaupt Grundbedingung, wenn man abnormale Sterblichkeit vermeiden will. Nahrungsreste und Fäkalien müssen täglich abgesaugt werden. Zu- und Abflußröhren und Heber müssen des öfteren von der einsetzenden Verpilzung befreit werden. Auch empfiehlt es sich, von Zeit zu Zeit die Aquarien ganz abzufischen und eine gründliche Reinigung derselben vorzunehmen. Will man Ausbreitung von Infektionen verhüten, so ist es gut, für jedes Aquarium besondere Instrumente, wie Thermometer usw. zu verwenden. Beim Abfischen der Aquarien und allen derartigen Prozeduren muß Temperaturwechsel, auch nur um wenige Grade, streng vermieden werden, wenn man Massensterben verhüten will. Was die Temperatur im allgemeinen betrifft, so wurde dieselbe sehr konstant auf 12 bis 13° C gehalten, doch dürften auch höhere Temperaturen gut ertragen werden, sofern sie nur nicht häufigen Schwankungen unterworfen sind. In den Wintermonaten

sank dann die Temperatur allmählich auf 8 bis 9° C. Ein ständiger, wenn auch mäßiger Durchstrom fließenden Wassers ist unbedingt erforderlich, schon um die Temperatur stets auf gleicher Höhe zu erhalten; außerdem müssen die Aquarien auch noch reichlich durchlüftet sein.

Was die Fütterung betrifft, so ist besonders in der ersten Zeit nach der Resorption der Dotterblase Naturfutter am zuträglichsten. Nachdem Daphnien in jener Zeit noch schwer zu erhalten waren, behalt ich mich mit Ostrakoden, die recht gern genommen wurden. Haben die Fischchen sich dann erst einmal an die Nahrungsaufnahme gewöhnt, so kann man auch zur Verfütterung von anderen Stoffen übergehen. Geschabte Milz durch ein feines Sieb gedrückt, mehrere Male im Tag ins Aquarium eingestreut, ist ein bewährtes Futter, ebenso Topfen. Zwischenherein gibt man immer gelegentlich einmal wieder Naturfutter. Rindermilz eignet sich besser als Kalbsmilz, da sie sich leichter schaben läßt und auch lieber genommen wird; außerdem ist sie auch billiger. Die Milz kann roh verfüttert werden. Das in den Fischzuchtanstalten geübte Abkochen kann unterbleiben, da es sich ja im vorliegenden Falle nicht um Verfütterung von Schlachtabfällen oder Teilen gefallener Tiere handelt, auch die gefütterten Fische ja nicht der menschlichen Ernährung dienen sollten. Irgendwelchen schädlichen Einfluß der Rohfütterung konnte ich nie bemerken. Etwas Abwechslung in der Fütterung ist empfehlenswert. Sind die Fische einmal 150 bis 180 Tage alt, so genügt es sie einmal im Tage zu füttern, da sie dann auch schon die am Boden liegende Nahrung aufzunehmen gelernt haben. Das Futterquantum richtet man so ein, daß am nächsten Tage noch ein mäßiger Rest im Aquarium zu finden ist, um sicher zu gehen, daß man genug gefüttert hat.

Es sei mir hier eine Bemerkung über eine unserm Thema allerdings fernerstehende Beobachtung gestattet. Bei dem täglichen Reinhalten der Aquarien und regelmäßiger Fütterung ist man leicht imstande die ungefähre Zeitdauer zu erkennen, in welcher eine aufgenommene Nahrung den Verdauungstraktus der Fischchen passiert. Füttert man einige Tage lang nur Milz, so nehmen die Fäkalien einen schwärzlichen Ton an. Wechselt man dann und füttert einige Tage nur Topfen, so sieht man deutlich, daß ungefähr 24 bis höchstens 48 Stunden nötig sind, bis die letzten schwärzlichen Fäkalienreste verschwunden und nur weißlich gefärbte Fäkalien (das Resultat der Topfenfütterung) vorhanden sind. Auch machte ich die Bemerkung, daß Topfen restloser verdaut wird als Milz, indem die Menge der Fäkalien nach Milzfütterung stets weit beträchtlicher war als nach Topfenfütterung.

Ich gehe nun zur genaueren Schilderung des Experimentes über.

Die erste Kultur, K I oder die Normalkultur, wurde am 24. II. 21 um 11 Uhr 30 Minuten vormittags angesetzt, d. h. es erfolgte um diese Zeit die künstliche Befruchtung. Die dazu verwendeten Elternfische gehörten zu den ersten in Wielenbach laichreifen Regenbogenforellen des Jahres 1921, so daß nicht anzunehmen war, dieselben könnten bereits einen gewissen Grad von Überreife erreicht haben. Gestreift wurden, wie schon erwähnt, vier Rogner, und wurden von jedem Fisch etwa 100 Stück Eier entnommen und diese dann zusammen von einem Milchner befruchtet. Die genaue Zahl betrug nach, wie oben erwähnt, später (am 27. III. 21) erfolgter Zählung 423 Stück.

K II wurde am 28. II. um 10 Uhr vorm. angesetzt, war also vier Tage überreif, wenn man hier überhaupt von Überreife sprechen will. Ich brauche wohl nicht zu erwähnen, daß sowohl diesmal wie alle folgenden Male immer wieder dieselben vier Rogner verwendet wurden, auch kam immer der gleiche Milchner zur Befruchtung in Betracht. Abgestreift wurden 463 Eier, gezählt am 4. IV. 21.

K III wurde am 3. III. 21 um 9³⁰ vorm. angesetzt, abgestreift wurden 498 Eier, gezählt am 4. IV. 21. Die Überreife betrug hier also 7 Tage.

K IV wurde am 9. III. 21 um 12 Uhr vorm. angesetzt, war also 13 Tage überreif. Um noch eine fünfte Kultur zu ermöglichen, wurde ein Rogner zur Orientierung über noch vorhandene Eierzahl ganz abgestreift und dafür den drei übrigen etwas weniger Eier entnommen. Im ganzen waren es in dieser Kultur 268 Eier, gezählt am 4. IV. 21. 5 Eier (die nicht mitgezählt wurden) trugen deutliche Spuren von Resorption.

K V wurde am 17. III. 21 um 10⁴⁵ Uhr vorm. angesetzt, indem den drei verbleibenden Rognern alle noch vorhandenen Eier abgestreift wurden. Es waren noch 530 Stück (gezählt am 4. IV. 21), die Überreife betrug hier 21 Tage. Ich will hier nochmals betonen, daß auch diesmal kurz nach dem letzten Abstreifen die sämtlichen Rogner zugrunde gingen. Zur Befruchtung wurde derselbe Milchner wie bei den vorhergehenden Kulturen verwendet, er gab noch genügend Milch. Zahlreiche Eier zeigten Spuren von Resorption, vielfach war die Resorption derart fortgeschritten, daß nur die Eischalen noch übrig waren. Letztere wurden natürlich vor dem Einsetzen der Eier in den Brutkasten abgeschwemmt und sind in der angeführten Eierzahl nicht inbegriffen. Hierzu muß ich aber noch eines bemerken: Die Eier dieser letzten Kultur machten mir sämtlich nach dem Abstreifen, noch bevor sie ins Wasser eingesetzt waren, im Vergleich zu den Eiern der früheren Kulturen, soweit ich diese noch im Gedächtnis hatte, den Eindruck auffallender Kleinheit und kam mir hierbei sofort der Gedanke, daß bereits eingetretene Resorption hier allgemein diese Volum-

abnahme bewirkt haben könnte. Leider hatte ich es unterlassen bei den vorigen Kulturen gleich nach dem Abstreifen noch ohne Wasserzusatz jeweils Messungen des Durchmessers und Volumens vorzunehmen, um so einen Vergleich anstellen zu können; denn jetzt noch Vergleiche mit den vorhergehenden Kulturen vorzunehmen, war nicht mehr möglich, da diese ja schon einen gewissen Vorsprung in der Entwicklung voraus hatten, und außerdem das Fischei, sobald es ins Wasser gelangt, bekanntlich eine Volumenzunahme erfährt. Vergleiche mit anderen normalreifen Fischen, wenn auch von gleicher Größe, waren ebenfalls untunlich, da die individuellen Unterschiede irre geführt hätten. Für spätere Untersuchungen sei darum an dieser Stelle darauf hingewiesen es keinesfalls zu unterlassen bei Überreifeexperimenten vergleichende Messungen der jeweils abgestreiften Eier und zwar an ein und demselben Fisch jedesmal unmittelbar nach dem Abstreifen vorzunehmen.

Dieser Aufgabe wollte ich mich der Vollständigkeit halber ein Jahr darauf unterziehen und streifte zu diesem Zweck zwei kräftigen Mutterfischen am 23. Februar 22, wie im Vorjahre, je eine kleine Partie normalreifer Eier ab. Da es mir diesmal nicht darauf ankam mehrere Kulturen mit jeweils gesteigerter Überreife zu erhalten, sollten die beiden Fische nach diesem ersten Abstreifen 21 Tage lang sich selbst überlassen bleiben, um eine größere Menge stark überreifer Eier zu erhalten, und zwar vom gleichen Grade der Überreife wie meine Kultur 5 im Vorjahre. Die abgestreiften, normalreifen Eier wurden genauen Messungen unterzogen. Es sei hier noch betont, daß die beiden Fische frisch aus dem Weiher stammten und diesmal unmittelbar nach dem Abstreifen in einen eigens zu diesem Zweck freigehaltenen Weiher wieder ausgesetzt wurden, da der Grund für das im Vorjahre erfolgte jedesmalige Absterben der Mutterfische in dem unnatürlichen Zurückhalten derselben im Behälter gesucht worden war. Trotzdem starben die beiden Mutterfische schon nach 10 Tagen ab und vereitelten so die Fortsetzung neuer Messungen. Da die Laichzeit schon fortgeschritten war und auch um weitere Verluste von Zuchtfischen zu vermeiden habe ich leider diese Versuche nicht fortsetzen können. Aus alledem geht aber mit Sicherheit hervor, daß das Überreifwerden der weiblichen Geschlechtsprodukte bei Forellen äußerst schädlich auf den Mutterorganismus einwirkt und zwar scheinbar um so mehr, je größere Mengen von Eiern der Überreife ausgesetzt sind. Der Organismus scheint demnach nur die Resorption von ganz kleinen Partien von Eiern bewältigen zu können; denn schon die ersten beiden Male im Jahre 1921 waren, allerdings erst nach dem fünfmaligen partienweisen Abstreifen, die Laichfische jedesmal abgestorben und das letztmal im Jahre 1922 schon nach viel kürzerer Zeit, wahrscheinlich, weil ihnen diesmal eine zu große Eiermenge längere Zeit belassen worden war.

Es ist auch möglich, daß das beim ersten Abstreifen mit abgestreifte Fruchtwasser nicht mehr in genügender Menge nacherzeugt wird, was vielleicht üble Wirkung hat, oder daß dessen Nacherzeugung den Organismus schädigt. Es ist somit keinesfalls so einfach überreife Eier bei Forellen zu erzielen, wie es auf den ersten Blick scheinen möchte.

Auch möchte ich mich an dieser Stelle noch ganz entschieden gegen die in der Literatur immer wieder auftauchende Behauptung richten, daß die Forelle nicht auf einmal, sondern partienweise ablaicht.

Denn erstens würde ein solcher Vorgang darauf hinweisen, daß die Eier der Forelle nicht alle gleichzeitig reifen. Nun ist es aber in der Fischzucht allgemein üblich, dem reifen Mutterfisch sämtliche Eier auf einmal abzustreifen und diese zu befruchten. Hierbei sind schon Resultate mit 99 ja 100% lebensfähiger Brut erzielt worden, ohne daß irgendwelche Merkmale sich gezeigt hätten, die auf einen verschiedenen Reifezustand der Eier bei der Befruchtung hätten schließen lassen.

Zweitens habe ich — und viele ernsthafte Züchter haben mir diese Erfahrung bestätigt — beim Fang von weiblichen Forellen zur Laichzeit stets entweder alle Eier schon abgelaidet gefunden, höchstens daß ein kleiner Rest vorhanden war, der aber dann auch nicht mehr zum Ablaiden kommt, sondern resorbiert wird, wie im nächsten Jahr die beim Abstreifen manchmal zunächst abgehenden alten Eischalen beweisen, oder aber es war eine im Verhältnis zur Fischgröße normalerscheinende Eiermenge vorhanden. Nie aber wurden Fische mit Bruchteilen dieser ungefähren Normalmenge gefunden.

Weiterhin ist auch das partienweise Ablaiden der Forellen in der Natur noch aus dem eben erwiesenen Grunde unwahrscheinlich, nämlich weil die Mutterfische auch das künstliche partienweise Abstreifen ihrer Eier so schlecht vertragen.

IV. Schicksal der Kulturen.

Vorausschicken möchte ich hier, daß das Verhalten der Kultur nur in bezug auf das Wachstum hinter dem zurückstand, was der Forellenzüchter bei rationeller Zucht von seinen Zuchtprodukten verlangt. Regenbogenforellen im Alter von 337 Tagen nach der Befruchtung haben gewöhnlich eine Länge zwischen 10 und 15 cm, während die Durchschnittslänge meiner Normalkultur in diesem Alter 7,44 cm betrug. Dies ist jedoch durch die Aquarienhaltung der verhältnismäßig großen Individuenzahlen ohne weiteres verständlich. In allen anderen Punkten entsprach das Verhalten der Normalkultur vollständig den sonst üblichen Erfahrungen. Die Verluste z. B. hielten sich in vollkommen normalem Rahmen. Auch der praktische Forellenzüchter rechnet bei der Entwicklung seiner Eier bis zum Ausschlüpfen

mit etwa 5% Verlusten, wenn auch mitunter noch geringere Verluste möglich sind. In meiner Normalkultur betrugen die Verluste bis zu dem eben erwähnten Zeitpunkt 3%. Bis zur Erreichung eines Alters von 1 Jahr wird mit 55—65% Verlusten gerechnet. Die Verluste meiner Normalkultur betrugen innerhalb 11 Monaten 58%.

1. Sterblichkeit.

Die in den einzelnen Kulturen eintretenden Verluste wurden vom ersten Tage nach der Befruchtung an Tag für Tag genau registriert. Die an jedem einzelnen Tag des Jahres eingetretenen Verluste für jede Kultur aber hier anzugeben, würde zu weit führen, zumal ja diese Ziffern keine Besonderheiten aufweisen. Das einzige Resultat, das sich aus einem Überblick über meine täglichen Verlustziffern ergab, war für alle Kulturen gleich und zwar, daß mit zunehmendem Alter der Kulturen die Verluste stetig abnahmen, was ja einleuchtend ist; denn es blieben natürlich immer die Kräftigsten übrig. Nach dem 192. Tage nach der Befruchtung wurden bei allen Kulturen die Verluste so gering, daß ich mit diesem Tage die Statistik abschließen will.

Über die Höhe der Verluste in den einzelnen Kulturen gibt am besten eine vergleichende Tabelle Aufschluß. Ich habe darin die Verluste für jede Kultur bis zum 192. Tage nach der Befruchtung verzeichnet, und habe diese Periode in drei Abschnitte eingeteilt: 1. Verluste während der Entwicklung der Eier von der Befruchtung bis zum Ausschlüpfen, 2. Verluste während der Entwicklung der Dotterbrut vom Ausschlüpfen bis zur Resorption des Dottersacks, 3. Verluste der Brut von der Resorption des Dottersacks bis zum 192. Tage nach der Befruchtung. Die Zusammenfassung der Verluste während dieser drei Perioden ergibt die Gesamtverluste für jede Kultur. Eine weitere Spalte der Tabelle zeigt die Verluste in Prozenten, da ja die Ausgangszahlen der Kulturen nicht gleich waren.

Aus Spalte 1 der Tabelle ist vor allem zu ersehen, daß mit steigender Überreife sich der Prozentsatz der Verluste an Eiern ganz gewaltig erhöht, d. h. daß eben bei Überreife ein großer Teil der Eier überhaupt nicht angeht und unbefruchtet zugrunde gehen muß.

Spalte 2 zeigt, daß auch die sich entwickelnde Dotterbrut mit zunehmender Überreife mehr und mehr Verluste aufweist. Dies mag hauptsächlich daher kommen, daß durch die Überreife Entwicklungsstörungen und Mißbildungen aller Art hervorgerufen werden und derartige Krüppel natürlich zumeist schon kurz nach dem Ausschlüpfen umfallen. Wir werden bei dem Kapitel »Entwicklung« noch näher hierauf zu sprechen kommen.

Anders Spalte 3. Hier ist durch die Dezimierung der Eier und Dotterbrut in den Kulturen IV und V eben schon eine derartige

Tabelle I.

| | Bezeichnung der Kulturen | Kultur I normalreif 423 Eier | Kultur II 4 Tage überreif 463 Eier | Kultur III 7 Tage überreif 498 Eier | Kultur IV 13 Tage überreif 268 Eier | Kultur V 21 Tage überreif 590 Eier |
|-------|---|---|---|--|---|---|
| Sp. 1 | Verluste von der Befruchtung bis zum Ausschlüpfen: | 13 d. i. 3 ⁰ / ₁₀₀ der Eier | 28 d. i. 6 ⁰ / ₁₀₀ der Eier | 38 d. i. 8 ⁰ / ₁₀₀ der Eier | 80 d. i. 30 ⁰ / ₁₀₀ der Eier | 286 d. i. 54 ⁰ / ₁₀₀ der Eier |
| Sp. 2 | Verluste vom Ausschlüpfen bis zur Resorption der Dotterblase: | 2 d. i. 0,5 ⁰ / ₁₀₀ der Dotterbrut | 7 d. i. 1,6 ⁰ / ₁₀₀ der Dotterbrut | 25 d. i. 5,4 ⁰ / ₁₀₀ der Dotterbrut | 20 d. i. 10,6 ⁰ / ₁₀₀ der Dotterbrut | 29 d. i. 12 ⁰ / ₁₀₀ der Dotterbrut |
| Sp. 3 | Verluste von der Resorption der Dotterblase bis zum 192. Tage nach der Befruchtung: | 215 d. i. 53 ⁰ / ₁₀₀ der Brut | 290 d. i. 68 ⁰ / ₁₀₀ der Brut | 315 d. i. 72 ⁰ / ₁₀₀ der Brut | 67 d. i. 40 ⁰ / ₁₀₀ der Brut | 150 d. i. 69,5 ⁰ / ₁₀₀ der Brut |
| Sp. 4 | Gesamtverluste von der Befruchtung bis zum 192. Tage nach der Befruchtung: | 230 | 325 | 378 | 167 | 465 |
| Sp. 5 | Gesamtverluste in Prozenten: | 54 ⁰ / ₁₀₀ | 70 ⁰ / ₁₀₀ | 76 ⁰ / ₁₀₀ | 60 ⁰ / ₁₀₀ | 87,7 ⁰ / ₁₀₀ |

Selektion getroffen, daß die Überlebenden nur die kräftigsten Tiere darstellen, unter welchen auch keine großen Verluste mehr vorkommen. Dies ist auch an deren zunächst besserem Wachstum zu erkennen, wie später noch erwiesen wird. Schließlich mag aber diese Kulturen auch ihre geringe Zahl begünstigt haben im Vergleich zu KI, KII und KIII, von denen sich ja die Brut viel zahlreicher erhalten hatte. Zu stark darf man aber diesen Faktor nicht heranziehen; denn ich hatte ihn nach Möglichkeit durch verschiedene Größe der Zuchtbehälter kompensiert. Näheres hierüber im Kapitel »Wachstum«! Die verhältnismäßig hohen Verluste an Brut in der Kultur II müssen überdies eine Reduktion erfahren; denn in dieser Kultur war durch einen ungünstigen Zufall zweimal längere Zeit der Wasserzufluß ausgeblieben, was einmal ein Sterben von 45, das zweite Mal von 30 Fischchen zur Folge hatte; und zwar jedesmal gerade der größten Exemplare, was nebenbei bemerkt ein schöner Beweis dafür war, wie auch nur ein geringes Plus in der Größe bei Forellen schon das Sauerstoffbedürfnis erhöht. Eines aber können wir aus Tabelle I mit Sicherheit entnehmen: Die Überreife schädigt vor allem die Eier von vornherein

derart, daß eben viele überhaupt nicht mehr befruchtungsfähig sind. Hat die Brut erst einmal den Dottersack resorbiert, so ist die Sterblichkeit der Überreifekulturen keineswegs erhöht.

2. Freßlust und Verhalten.

Was die Nahrungsaufnahme betrifft, so war dieselbe in allen Kulturen zufriedenstellend. Immerhin zeichnete sich KI stets durch besondere Freßlust aus und fanden sich in deren Behälter Nahrungsreste fast überhaupt nicht vor. An Intelligenz standen die Kulturen IV und V den Kulturen II und III und besonders der Kultur I bei weitem nach. Während die Kultur I und in geringerem Maße auch KII und III mit der Zeit äußerst zutraulich und keck wurden und genau Bescheid wußten, wenn ich mich zur Fütterung anschickte, bewahrten die Kulturen IV und V stets ein scheues und nervöses Benehmen und huben meist erst zu fressen an, wenn ich mich in einiger Entfernung von den Behältern befand. Ich will hieraus weiter keine Schlüsse ziehen, wollte aber diese Beobachtung doch nicht unerwähnt lassen; denn wenn man nahezu ein Jahr lang täglich etwa 2 Stunden bei seinen Tieren verweilt, so kann man wohl annehmen auch mit deren Gepflogenheiten hinreichend vertraut geworden zu sein. Auch erhöht es die Forscherfreude, wenn man seine Versuchsobjekte nicht allzu unpersönlich auffaßt. Es kommt mir das immer wie eine Art Selbstüberhebung vor.

3. Wachstum.

Wenn ich nun zu dem Kapitel »Wachstum« komme, so muß ich doch erst einiges über die Größe der Zuchtgefäße, Stärke der Kulturen usw. vorausschicken. Es soll auf das Gedeihen der Kulturen, sowohl was Sterblichkeit als auch was Wachstum anbetrifft, die Größe der Zuchtbehälter und Anzahl der darin gehaltenen Tiere von Einfluß sein, derart, daß je dichter die Tiere im Behälter zu stehen kommen, das Gedeihen um so mehr beeinträchtigt wird. Leider habe ich nicht für alle Kulturen gleichgroße Behälter bekommen können, was allerdings ja auch nicht viel geholfen hätte, da ja die Kulturen ungleich stark an Zahl waren. Immerhin machte ich die Bemerkung, daß das Wachstum in allen fünf Kulturen keine erheblichen Unterschiede aufwies, trotz Verschiedenheit in der Behältergröße, in der Zahl der Tiere und im Grad der Überreife. Die nachstehende Tabelle II wird dies ja noch offensichtlich machen. Um ein ungefähres Bild von den Lebensbedingungen der einzelnen Kulturen zu geben, lasse ich hier eine genauere Beschreibung folgen. Alle nun folgenden Maße verstehen sich im Inneren der Behälter genommen. Auch ist zu berücksichtigen, daß der Wasserstand nie die volle Höhe der Aquarien, sondern durch-

schnittlich $\frac{3}{4}$ derselben erreichte, so daß die angegebenen Inhaltszahlen cum grano salis zu verstehen sind.

Kultur I wurde am 1. V. 21, also 66 Tage nach der Befruchtung, von Wielenbach nach München in das Zoologische Institut transportiert und in einem Aquarium von 27 cm Höhe, 36 cm Breite und 58 cm Länge, also 56,4 Liter Inhalt untergebracht. Es waren an diesem Tage noch 408 Brutfischchen. Am 11. VI., also 107 Tage nach der Befruchtung, wurde die Kultur etwas reduziert, indem 20 Stück in eine Unterabteilung des Betonbeckens im Institutsgarten ausgesetzt wurden. Am 3. IX., also 192 Tage nach der Befruchtung, waren im Aquarium der KI noch 175 Fischchen vorhanden, wovon weitere 75 Stück in die oben genannte Unterabteilung des Betonbeckens im Institutsgarten ausgesetzt wurden; so daß noch 100 Stück im Aquarium verblieben. Am 1. X. 21 wurden diese — es waren nunmehr noch 95 Stück, da 5 Stück abgetötet worden waren — in einen Behälter von 49 cm Höhe, 50 cm Breite und 76 cm Länge, also 186,2 Liter Inhalt umgesetzt. Am 26. I. 22, also 337 Tage nach der Befruchtung, wurde die Kultur endgültig abgetötet. Es waren infolge früherer Abtötungen noch 72 Stück.

Kultur II wurde am 9. V. 21, also 72 Tage nach der Befruchtung, transportiert und in einem Aquarium von gleicher Größe wie dasjenige von KI untergebracht. Es waren an diesem Tage noch 426 Brutfischchen. Am 11. VI., also 103 Tage nach der Befruchtung, wurden 20 Stück davon in eine zweite Unterabteilung des Beckens im Garten ausgesetzt. Am 7. IX. 21, also 192 Tage nach der Befruchtung, waren im Aquarium noch 120 Stück vorhanden, wovon weitere 20 Stück im Garten ausgesetzt wurden, so daß auch hier nur 100 Stück im Aquarium zurückblieben. Der Behälter wurde beibehalten. Ich möchte hier noch betonen, daß die jeweils ausgesetzten Fischchen stets regellos herausgegriffen wurden, also keinerlei Auswahl dabei stattgefunden hat. Am 30. I. 22, also 337 Tage nach der Befruchtung, wurde KII abgetötet. Es waren noch 95 Stück.

KIII wurde transportiert am 17. V. 21, also am 75. Tage nach der Befruchtung. Es waren noch 435 Brutfischchen. Sie wurden in einem Aquarium von 27 cm Höhe, 27 cm Breite und 37 cm Länge, also 27 Liter Inhalt untergebracht. Am 15. VI., also 104 Tage nach der Befruchtung, wurden 20 Stück in eine weitere Abteilung des Beckens im Garten ausgesetzt. Am 10. IX., also 192 Tage nach der Befruchtung, waren noch 102 Stück vorhanden, die im Aquarium belassen wurden. Am 1. X., also 213 Tage nach der Befruchtung, wurde KIII in das freigewordene Aquarium von KI von 27 cm Höhe, 36 cm Breite und 58 cm Länge, also 56,4 Liter Inhalt, umgesetzt. Es waren an diesem Tage noch 100 Stück, da zwei abgetötet worden waren.

Am 2. II. 22., also 337 Tage nach der Befruchtung, wurde die ganze Kultur III abgetötet, es waren noch 85 Stück.

K IV wurde transportiert am 23. V. 21, also am 75. Tage nach der Befruchtung, und in einem Behälter von gleicher Größe wie anfänglich K III, nämlich 27 cm Höhe, 27 cm Breite und 37 cm Länge, also 27 Liter Inhalt, untergebracht. Es waren noch 168 Fischchen. Am 16. IX., also 192 Tage nach der Befruchtung, waren noch 101 Stück vorhanden, wovon 1 Fischchen in eine besondere Abteilung des Beckens im Garten kam, so daß im Aquarium noch 100 Stück verblieben. Am 4. X., also 210 Tage nach der Befruchtung, wurden dann von den noch vorhandenen 96 Fischchen — 4 waren abgetötet worden — 48 in dem anfänglichen Behälter belassen, die anderen 48 in den anfänglichen Behälter von KV von 31 cm Höhe, 27 cm Breite und 43 cm Länge, also 36 Liter Inhalt, gesetzt. Am 28. I. 22 wurde die Kultur auch noch auf die zwei durch Umsetzen freigewordenen Aquarien von KV verteilt, so daß auf nunmehr 4 Aquarien je $\frac{1}{4}$ der Kultur kam. Am 4. II. 22 wurden die noch vorhandenen 64 Fischchen von K IV zu je 32 in die beiden durch Abtöten der Kulturen II und III freigewordenen großen Aquarien umgesetzt. Am 8. II. 22, also 337 Tage nach der Befruchtung, wurden die noch vorhandenen 64 Stück abgetötet.

KV wurde am 1. VI. 21, also 75 Tage nach der Befruchtung, transportiert. Es waren noch 215 Fischchen. Der Behälter, in welchem sie zunächst untergebracht wurden, hatte 31 cm Höhe, 27 cm Breite und 43 cm Länge, also 36 Liter Inhalt. Am 24. IX., also 192 Tage nach der Befruchtung, waren noch 65 Stück vorhanden. Am 4. X., also 202 Tage nach der Befruchtung, wurden hiervon 33 in einen Behälter von 27 cm Höhe, 27 cm Breite und 37 cm Länge, also 27 Liter Inhalt und 32 in einen zweiten von gleichem Inhalt umgesetzt. Am 28. I. 22 wurden die noch nach verschiedenen Abtötungen vorhandenen 35 Stück in das durch Abtöten der KI freigewordene große Aquarium umgesetzt. Am 16. II. 22, also 337 Tage nach der Befruchtung, wurden die noch vorhandenen 34 Fischchen abgetötet.

Bevor ich nun zur Schilderung der Resultate meiner Messungen übergehe, noch einige Worte über die Gartenkulturen:

Das Becken im Garten war aus Beton, durch Drahtgitter in Unterabteilungen zerlegt, der Wasserdurchstrom war äußerst mangelhaft, die einzelnen Abteilungen dicht mit Pflanzen bestanden, die Temperatur an heißen Sommertagen bis zu 30° C., so daß bei grellem Sonnenschein die Gefahr einer Sauerstoffüberreicherung bestand. Im Herbst vermoderten die Pflanzen, Sauerstoffzehrung mußte die Folge sein. Die künstliche Fütterung der Tiere geschah spärlich und unregelmäßig. Und trotzdem gedieh die Brut mindestens ebensogut,

wenn nicht besser, als die im Aquarium gehaltene. Keine Schädigung infolge Sauerstoffüberreicherung im Sommer, keine Beeinträchtigung infolge Sauerstoffzehrung im Herbst! Es war nur ein Nachteil an der ganzen Sache, nämlich daß man die Fischchen im Becken in dem Pflanzengewirr aus den Augen verlor und auch einzelne Trennungsgitter der verschiedenen Abteilungen durchrosteten, so daß ich zu exakten Untersuchungen die Tiere mir nicht zu verwenden getraute. Ich erwähnte diese Gartenkulturen überhaupt nur, weil sie ein schönes Beispiel dafür sind, wie die beste und sorgsamste Pflege im Aquarium auch nur halbwegs naturgemäße Bedingungen nicht ersetzen kann, selbst wenn diese denkbar primitiv sind.

Die Wachstumsverhältnisse der Aquarienkulturen zeigt nachfolgende Tabelle: Die Größe der Fischchen wurde durch Wasserverdrängung festgestellt. Längenmessungen an größeren Mengen öfters anzustellen war undurchführbar. Es hätte darunter das wertvolle Material zu sehr gelitten.

Tabelle II.

| 20 Stück verdrängen: | Kultur I normal | Kultur II 4 Tage überreif | Kultur III 7 Tage überreif | Kultur IV 13 Tage überreif | Kultur V 21 Tage überreif |
|---|---------------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| 85 Tage nach der Befruchtung: | 4,3 ccm H ₂ O | 5 ccm H ₂ O | 4 ccm H ₂ O | 4,7 ccm H ₂ O | 4 ccm H ₂ O |
| 138 Tage nach der Befruchtung: | 7 ccm H ₂ O | 9 ccm H ₂ O | 8,5 ccm H ₂ O | 7,5 ccm H ₂ O | 8 ccm H ₂ O |
| 165 Tage nach der Befruchtung: | 10,5 ccm H ₂ O | 9,5 ccm H ₂ O | 11 ccm H ₂ O | 17 ccm H ₂ O | 9,5 ccm H ₂ O |
| 198 Tage nach der Befruchtung: | 17 ccm H ₂ O | 20 ccm H ₂ O | 25 ccm H ₂ O | 25 ccm H ₂ O | 28 ccm H ₂ O |
| 237 Tage nach der Befruchtung: | 31 ccm H ₂ O | 34 ccm H ₂ O | 34 ccm H ₂ O | 39 ccm H ₂ O | 41 ccm H ₂ O |
| 281 Tage nach der Befruchtung: | 70 ccm H ₂ O | 60 ccm H ₂ O | 58 ccm H ₂ O | 65 ccm H ₂ O | 58 ccm H ₂ O |
| 314 Tage nach der Befruchtung: | 85 ccm H ₂ O | 70 ccm H ₂ O | 70 ccm H ₂ O | 68 ccm H ₂ O | 60 ccm H ₂ O |
| Durchschnitts- wasserverdrängung (arithm. Mittel) | 32,1 | 29,6 | 30 | 32,3 | 29,8 |
| Durchschnittslänge 337 Tage nach der Befruchtung: | 7,44 cm | 6,96 cm | 7,1 cm | 7,1 cm | 6,9 cm |

Wir sehen aus dieser Tabelle, daß zwar zunächst die Brut nach dem Ausschlüpfen durch die Überreife in ihrem Wachstum begünstigt

wird, daß aber späterhin die normaleren Kulturen diesen Vorsprung nicht nur einholen, sondern sogar überflügeln, und dies trotz der hohen Verluste der Überreifekulturen, die ohnedies die Schwächlinge schon bei Zeiten dahingerafft hatten. Eine weitere Tabelle über die Größendifferenzen gleichalter Fische (337 Tage nach der Befruchtung) in den verschiedenen Kulturen zeigt außerdem, wie mit steigender Überreife die Größendifferenzen gleichalter Fische wachsen:

Tabelle III.

| Kulturen: | Größtes ♂ | Größtes ♀ | Kleinstes ♂ | Kleinstes ♀ | Größendifferenz |
|-----------|-----------|-----------|-------------|-------------|-----------------|
| I. | 8,5 cm | 9,2 cm | 5,3 cm | 5,4 cm | 3,9 cm |
| II. | 8,9 cm | 8,3 cm | 5,7 cm | 4,9 cm | 4 cm |
| III. | 9,3 cm | 9,7 cm | 4,8 cm | 5,3 cm | 4,9 cm |
| IV. | 9,6 cm | 9,4 cm | 4,7 cm | 5,3 cm | 4,9 cm |
| V. | 9,1 cm | 9,4 cm | 3,7 cm | 5,1 cm | 5,7 cm |

4. Entwicklung.

a) Entwicklungsdauer.

Auch über die Dauer der Entwicklung bei den einzelnen Kulturen gibt am besten eine kleine Tabelle Aufschluß. Es ist darin vermerkt, am wievielten Tage nach der Befruchtung in den verschiedenen Kulturen gewisse Abschnitte der Entwicklung erreicht werden. Und zwar erstens, an welchem Tage nach der Befruchtung die erste Dotterbrut ausgeschlüpft ist, zweitens, wann alles sich zur Dotterbrut entwickelt hat, drittens, wann sämtliche Brut den Dottersack resorbiert hatte.

Tabelle IV.

| Bezeichnung der Kulturen: | Kultur I normal | Kultur II 4 Tage überreif | Kultur III 7 Tage überreif | Kultur IV 13 Tage überreif | Kultur V 21 Tage überreif |
|---|--------------------|---------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| erstes Erscheinen von Dotterbrut nach der Befruchtung: | 36 Tage | 34 Tage | 37 Tage | 38 Tage | 40 Tage |
| alles zur Dotterbrut entwickelt. Nach der Befruchtung: | 41 Tage | 41 Tage | 43 Tage | 48 Tage | 54 Tage |
| Dottersack überall resorbiert. Nach der Befruchtung: | 66 Tage | 68 Tage | 70 Tage | 74 Tage | 75 Tage |

Wenn auch die Unterschiede in der Entwicklungsdauer bei den einzelnen Kulturen nicht erheblich sind, so ist doch eine allmähliche Verzögerung in der Entwicklung mit steigender Überreife unverkennbar. Und zwar macht sich diese Entwicklungsverzögerung nicht nur

einmal, sondern stetig geltend, indem *jeweils* die Zeitspannen zwischen den einzelnen Entwicklungsabschnitten bei den Überreifekulturen länger sind als bei der Normalkultur.

b) *Entwicklungsstörungen.*

Es wurde schon früher kurz erwähnt, daß mit steigender Überreife sich in den Kulturen das Auftreten von Krüppeln und Mißbildungen aller Art auffallend verstärkte. — Schon *O. Hertwig* (1903) hat beim Frosch durch Überreife Mißbildungen erzielt. Auch *Werber* (1917) hat bei *Fundulus heteroclitus* darauf hingewiesen, daß die Eier durch chemische Einflüsse desto leichter dazu zu bringen sind, eine abnorme Entwicklung einzuschlagen, je älter sie sind. Obige Versuche zeigen aber, daß gar keine chemischen Einflüsse nötig sind, sondern daß die Überreife auf genügend hohen Stadien ohnedies zu Miß- und Doppelbildungen führt. Auch Mißbildungen bei anderen Wirbeltieren dürften vielfach auf diesen bisher unbeachteten Faktor zurückzuführen sein. Auch die Klagen, die manchmal in Kreisen der Forellenzüchter über abnormal große Zahlen von Miß- und Doppelbildungen laut werden, deren Ursache man aber zumeist in starken Erschütterungen beim Eierversand gesucht hat, dürften wohl des öfteren eher darin ihre Erklärung finden, daß diese Eier überreif gewesen sind, als sie zur Befruchtung kamen; denn vielfach wird in Forellenzuchten besonders bei Personalmangel und Arbeitsüberlastung ein öfteres Durchprobieren der Laichfische zur Ermittlung ihres Reifezustandes unterlassen. Man wartet bis größere Partien zusammenkommen, worunter sich dann naturgemäß auch viele überreife Tiere befinden; denn in den Teichen künstlicher Fischzuchten laicht die Forelle, auch wenn sie noch so sehr überreif ist, fast nie ab; besonders da die Laichfische zum Zwecke leichter Erreichbarkeit zur Zeit der Reife meist in kleineren Teichen versammelt werden.

Wohl auch viele der oft unerklärlichen in anderen Tierklassen auftretenden Anomalien, die man bisher mit dem hübschen Verlegenheitsausdruck »Mutation« bezeichnet hat, erklären sich mit Hilfe der Überreife der Geschlechtsprodukte, die ja auch in der Natur aus irgendwelchen Gründen wohl zustandekommen kann. Es wäre nur wünschenswert, mit solchen aus überreifen Eiern entstandenen Individuen weiter zu züchten und die Vererblichkeit der diesen eigenen Neigung zu Mißbildungen nachzuweisen.

Auch bei den Froschversuchen *R. Hertwigs* (1912) und (1921) und *Eidmanns* (1922) waren bei Überreifekulturen Mißbildungen häufig gewesen, so daß hier mit meinen Versuchen volle Übereinstimmung herrscht.

Eine genaue Erklärung für diese Störungen zu geben, wäre nur möglich, wenn man die Furchungsteilungen überreifer Eier von

frühesten Stadien an verfolgen würde, wie dies ja von *O. Hertwig* (1903) bei Mißbildungen von Fröschen, die aus überreifen Eiern hervorgegangen waren, bereits geschehen ist. *O. Hertwig* beschreibt hier das Zustandekommen der Mißbildungen bereits während der Gastrulation. Die inneren Ursachen hierfür bleiben freilich ungeklärt. Auch nach *Schmitt* (1902) sollen bei der Forelle Doppelbildungen schon auf dem Gastrulastadium zu erkennen sein.

Und soviel kann auch ich wohl sagen, daß die Vorgänge, die zu Mißbildungen führen, schon auf ziemlich frühen Stadien der Entwicklung beginnen, indem die Protoplasmaschädigungen der Eier auch störende Wechselwirkungen auf die Chromosomen hervorrufen und so zur Elimination, Verkümmern oder Erschütterung von Erbanlagen führen. Denn wenn die Mißbildungen zuerst augenfällig werden, das ist also beim Ausschlüpfen der Fischchen, dann sind sie sämtlich auch schon in ihrem vollen Umfange vorhanden.

Es ist überdies gar nicht unbedingt notwendig, an eine Einwirkung auf die Erbfaktoren infolge der Protoplasmaschädigung zu denken; denn wie die Versuche von *Driesch* und *Morgan* (1895) am *Ctenophorene* bewiesen haben, genügen auch Defekte des Eiprotoplasmas, um späterhin Defekte in der Organisation hervorzurufen. *Ich halte diese Erklärung für die nächstliegende.* Wahrscheinlich dürften sich auch bei Vererbungsexperimenten mit solchen Überreifekrüppeln nur die Tendenz zur Krüppelbildung und nicht bestimmte Anomalien als vererblich herausstellen.

Einen anderen Ausblick auf eine Erklärung liefern vielleicht die Angaben *Waldeyers* (1901—1903), nach welchen bei Eiern, die im Begriffe stehen, der Resorption anheim zu fallen, vielfach Richtungsspindelfiguren, ja sogar Furchungsteilungen parthenogenetischer Art zu bemerken sind. Sind solche Stadien noch befruchtungsfähig, so wäre eine Erklärung für Doppelbildungen usw. unschwer gegeben.

Wegweisend in dieser Hinsicht sind Versuche von *K. Herbst* (1906—1913). Er bastardierte Weibchen von *Sphaerechinus* mit Männchen von *Strongylocentrotus*, indem er die Eier durch Fettsäurebehandlung zur Entwicklung anregte und dann Überreife herbeiführte, indem er die Befruchtung graduell verzögerte, so lange, bis schon die erste Furchungsteilung in Vorbereitung war. Er erzielte hierdurch Larven mit stark nach der mütterlichen Seite verschobenen und endlich ausschließlich mütterlichen Eigenschaften. Unter anderem befanden sich darunter auch Larven von asymmetrischem Bau. Ihre eine Seite enthielt haploide (rein mütterliche), die andere Seite diploide Kerne (Bastardkerne). Dies erklärt sich so, daß der Spermakern zu spät, also schon auf einem Stadium eindrang, auf welchem das Ei die erste Furchung eingeleitet hatte. Der Spermakern vereinigte sich demgemäß nur mit dem Kern

der einen Furchungskugel. *Herbst* gelangen überdies auch Befruchtungen von Eiern, die schon vier parthenogenetische Monasterbildungen hinter sich hatten.

In unserem Falle müßte man also die allerdings wenig wahrscheinliche Annahme machen, daß durch die Überreife die Eier zu parthenogenetischer Entwicklung angeregt würden; nur daß das Sperma zu spät eindringt, und zwar erst wenn schon die Furchung begonnen hat, und somit nur noch eine weitere Entwicklungsanregung hervorriefe, während es auf die Erbeigenschaften nur teilweisen oder gar keinen Einfluß ausübt.

Diese etwas *gesuchte* Erklärung würde natürlich nur sich behaupten können, wenn durch cytologische Untersuchungen sich ergeben würde, daß sich während des Befruchtungsvorganges oder in dessen Folge ein Ausscheiden des männlichen Chromatins bemerkbar machte, oder daß durch die Überreife parthenogenetische Furchung eingetreten ist und ein Eindringen des Spermakerns in nur eine Furchungskugel stattfand.

Ferner müßte die Chromosomenzahl der Brut entweder haploide Kernbeschaffenheit ergeben oder bei Asymmetriebildungen zum Teil haploide, zum Teil diploide Kerne vorhanden sein.

Unregelmäßigkeiten in der Embryonalentwicklung können ferner auch durch Polyspermie hervorgerufen werden, indem, getrennt von der eigentlichen durch die Kopulation der Geschlechtskerne entstandenen Spindel, Spermaspindeln auftreten und in Tochterspindeln zerfallend, eine Art Knospenfurchung veranlassen. Durch die Überreife könnte wohl die Widerstandsfähigkeit der Eier gegen das Eindringen mehrerer Spermien geschwächt werden.

Nachdem Polyspermie bei sonst normalen Eiern aber auch durch konzentrierten Samenzusatz hervorgerufen wird, so könnte man einwenden, daß bei kleinen Eierpartien, die im Versuch verwendet werden, vielleicht der Samenzusatz zu konzentriert ist; denn für gewöhnlich rechnet man ja auf den Laich von drei Weibchen zur Befruchtung nur die Milch eines Männchens. Da aber der zur Verwendung gelangte Milchner bei jeder Eierpartie ganz ausgestreift wurde, so käme der konzentrierte Samenzusatz vor allem für die Normalkultur in Frage; denn späterhin gab das Männchen eher weniger Milch. Bei der Normalkultur aber traten keine Mißbildungen auf, es ist somit zweifellos die Überreife der Grund für die abnorme Entwicklung gewesen.

Auch diese letzterwähnten Erklärungsversuche, die mir weniger einleuchtend erscheinen, könnten nur durch einwandfreie Untersuchungen der Befruchtungsvorgänge überreifer Eier und der unmittelbar nachfolgenden Stadien bestätigt werden.

Natürlich kommen die erwähnten Krüppel zumeist gar nicht oder doch nur um ein Kurzes über das Stadium der Dotterbrut hinaus;

denn sie sind zumeist derart in ihrer Lebensfähigkeit, wie Atmung, Zirkulation und vor allem Freßfähigkeit behindert, daß ein längeres Weiterleben, besonders wenn dann die Dotterblase größtenteils resorbiert ist, nicht mehr in Frage kommt. Immerhin halten sich manche dieser Krüppel erstaunlich lange. Man könnte nun leicht auf den Gedanken kommen, für die großen Verluste an Eiern in den Überreifekulturen lediglich diese Entwicklungsstörungen verantwortlich zu machen. Es würden also die vielen in diesen Kulturen abgestorbenen Eier diejenigen darstellen, bei welchen die Entwicklungsstörungen schon vor dem Ausschlüpfen zum Stillstand in der Entwicklung und zum Tod geführt haben. Hier kommen mir aber meine täglichen Verlustaufzeichnungen zugute. Aus diesen ergibt sich nämlich, daß die größten Verluste an Eiern in den Überreifekulturen stets ganz kurz nach der Befruchtung eingetreten sind. So z. B. bei Kultur V, die am 17. III. 1921 befruchtet wurde, waren die ersten einwandfrei toten Eier am 21. III. zu bemerken und zwar 40 Stück, dann am 24. III. 95 Stück und 27. III. 86 Stück. Von da ab war der Höchstverlust 12 Stück. Das beweist ohne weiteres, daß die Hauptverluste bei überreifen Eiern durch das Nichtangehen derselben hervorgerufen werden. Immerhin waren auch dann die täglichen Verluste noch höher als bei weniger überreifen Kulturen und hierfür mag man dann wohl mit Recht Entwicklungsstörungen, die einen früheren gänzlichen Entwicklungsstillstand hervorgerufen haben, verantwortlich machen.

Weitere Gedanken über diese Entwicklungsstörungen finden sich noch später im theoretischen Teil dieser Arbeit. Vorläufig will ich nun noch zur näheren Beschreibung der Art und Zahl der Mißbildungen in den einzelnen Kulturen übergehen. In K I waren alle Fische normal bis auf 2 Tiere, wovon eines die linke Seite vom Schwanz bis wenig über die Fettflosse hinaus stets dunkelgefärbt trug, also nicht die Möglichkeit des Farbwechsels besaß, demnach eine Nervenstörung hatte. Das zweite Tier hatte stark verkürzten Oberkiefer und auffallend kurze Gonaden. Bei diesen stellte sich auf Schnittpreparaten heraus, daß sie eigentümlicherweise männliche Struktur aufwiesen, in dieser jedoch regelmäßig auf allen Schnitten eingesprengte Eier lagen und zwar über die ganze Länge der Gonaden verteilt.

In K II war nur ein etwas abnormes Fischchen mit einer kleinen Einkerbung an der Oberseite des Schwanzes und ein Tier mit leichter Rückgratsverkrümmung am Schwanz.

In K III war ein Tier mit Rückgratsverkrümmung, ein Tier mit Doppelschwanz, eines dessen Nasengruben verschmolzen und in die Maulhöhle durchgebrochen waren, ein Tier hatte stark verkürzten Unterkiefer, ein anderes zwei Afterflossen, ferner waren 6 Fischchen blind, ohne daß die Augen sonst rückgebildet gewesen wären. Es ließ sich

dies leicht feststellen, da die Tiere auf hellem Untergrund stets ganz dunkel blieben und deutlich von den übrigen Fischchen im Behälter abstachen, auch stellten sie sich ungeschickt in der Nahrungsaufnahme, nahmen nicht zu und gingen bald ein. Zwei dieser Fischchen lebten bis zum Abtöten der Kulturen. Im ganzen waren also in K III 11 Tiere abnormal entwickelt.

In K IV waren:

- 5 Fischchen mit verkrüppeltem Schwanz,
- 1 " " Stummelschwanz,
- 1 " " " und nur einer Bauchflosse,
- 1 " " verkümmerten Augen,
- 1 " " verkümmerten Augen, mißgebildetem Kopf
 und verwachsener Maulspalte,
- 1 " " verkrüppeltem Oberkiefer,
- 1 " " Maulsperre und zwei Afterflossen,
- 1 " " Maulsperre und blind,
- 2 " " blind.

Im ganzen waren also in K IV 14 abnormale Tiere. 6 dieser Fischchen lebten bis zum Abtöten der Kulturen.

Auffallend groß war die Zahl der Mißbildungen in K V. Es waren im ganzen 34 Stück abnormal entwickelte Fischchen. Die meisten derselben gingen noch als Dotterbrut oder kurz nach Resorption der Dotterblase zugrunde, obwohl die äußerlich sichtbaren Mißbildungen an sich nicht immer als Todesursache ausgereicht haben können, bei vielen werden also auch noch innere Störungen zum frühen Absterben beigetragen haben. Außer 3 Fischchen mit leichten Mißbildungen an Schwanz, Flosse und Rückgrat lebten nur 3 stark abnormale Fischchen längere Zeit: Eines mit einer tiefen Einkerbung der linken Körperseite erreichte ein Alter von 188 Tagen. Dieser Fall ist außerdem lehrreich; denn er ergibt eine gute Stütze für die Annahme, daß schon zur Zeit der Gastrulation dieser Entwicklungsausfall begründet gewesen sein muß. Ein anderes Fischchen mit verkürztem Oberkiefer und verkümmerten Augen und ein drittes mit einer Rückgratsverkrümmung lebten bis zu ihrer Abtötung, also 337 Tage.

Es kamen die verschiedensten Kombinationen von Mißbildungen vor. Manche Kombinationen traten häufiger in der gleichen Anordnung in Erscheinung, so z. B. Stummelschwanz und Verkümmern oder gänzliches Fehlen der Bauchflossen. Auch die Wachstumsunterschiede waren in K V sehr stark ausgeprägt, wie ja schon Tabelle III gezeigt hat. Während manche Tiere kaum merklich an Größe zunahmen, zeichneten sich andere durch große Schnellwüchsigkeit aus, so daß in einem Alter von etwa 200 Tagen die kleinsten Tiere mit 3 cm Länge nicht halb so groß waren wie die größten, die bereits zu dieser Zeit

eine Länge von 8 cm erreicht hatten. Die häufigsten Mißbildungen waren Rückgratsverkrümmungen, unbeweglich gesperrtes Maul, Erblindungen, verkümmerte Augen und Flossen usw. Mehrere Tiere machten einen recht sonderbaren Eindruck, indem sie sich infolge Rückgratsverkrümmung nur in kreisender Richtung zu bewegen vermochten und zwar entweder ausschließlich in der einen oder in der anderen Richtung des Uhrzeigers. Auch nahmen diese Tiere keine Nahrung auf und gingen daher bald nach Resorption der Dotterblase zugrunde.

Ich führe nun die verschiedenen Fischchen unter kurzer Bezeichnung ihrer abnormen Bildungen an:

- 5 Stück mit Rückgratsverkrümmung, kreisende Bewegung.
- 4 Stück mit Rückgratsverkrümmung.
- 2 Stück mit Rückgratsverkrümmung und blind.
- 1 Stück mit Rückgratsverkrümmung, vollständig verkümmerten Augen und zwei Afterflossen.
- 1 Stück mit Rückgratsverkrümmung, blind, Maulsperre.
- 1 Stück mit Rückgratsverkrümmung, Maulsperre, rechte Seite vom Schwanz bis über die Fettflosse stets dunkel.
- 1 Stück mit Rückgratsverkrümmung, rechter Kiemendeckel verlängert.
- 1 Stück mit Rückgratsverkrümmung, schneckenförmig eingerollt.
- 1 Stück mit Rückgratsverkrümmung, schneckenförmig eingerollt, Doppelschwanz.
- 1 Stück mit Doppelschwanz.
- 1 Stück mit Doppelschwanz, fehlende Rückenflosse.
- 1 Stück mit Stummelschwanz, verkümmerten Bauchflossen, abnorm großer Rückenflosse, fehlender Fettflosse und mißgebildeter Afterflosse.
- 1 Stück mit Stummelschwanz, ohne Bauchflossen, Maulsperre.
- 1 Stück mit verkümmertem Schwanz.
- 1 Stück mit verkümmerten Augen, Nasengruben in die Maulhöhle durchgebrochen.
- 1 Stück mit verkümmertem linken Auge, rechtes Auge mißgebildet.
- 1 Stück mit stark hervorquellenden Klotzaugen, Kiemendeckel verkürzt.
- 1 Stück mit verkümmerten Augen, Oberkiefer verkürzt.
- 1 Stück mit zwei Afterflossen.
- 2 Stück mit verkümmerter Afterflosse, zu nahe am After gelegen.
- 1 Stück mit verwachsener Mundspalte, linke Seite vom Kopf bis zur Rückenflosse stets dunkel.
- 1 Stück mit Einkerbung der linken Körperseite.
- 2 Stück mit stark verkürztem Körper, disproportioniert, Höckerbildung am Schädel.
- 1 Stück mit derartiger Körperverschmälerung, daß die Afterflosse zwischen die Bauchflossen zu stehen kam und mit diesen verwuchs.

Am häufigsten sind also, wie man sieht, die Rückgratsverkrümmungen (17 Fälle), dann folgen Mißbildungen die Augen betreffend (8 Fälle), Flossenmißbildungen (7 Fälle), Schwanzmißbildungen (6 Fälle) und Maulsperre (3 Fälle). Die übrigen Mißbildungen sind seltener.

Auf einen Punkt aber will ich hier anschließend noch gesondert eingehen: Es ist dies die Verkürzung der Kiemendeckel. Ein Merk-

mal, das ja im allgemeinen bei Regenbogenforellen häufig ist und von Züchtern als eine Folge der Inzucht bezeichnet wird, die durch den Mangel an Einfuhr von neuen Eiern aus Amerika seit der Einbürgerung der Regenbogenforelle in Europa lange Zeit hindurch betrieben wurde. Eine leichte Verkürzung des Kiemendeckels im Vergleich zur Bachforelle weist fast jede Regenbogenforelle auf und so erwähne ich im folgenden nur solche Verkürzungen, die abnorm stark oder gar durch eine regelrechte Umstülpung des Kiemendeckels nach außen und vorn bedingt sind. Ich habe die Zahl solch auffallender Kiemendeckelverkürzungen in nachstehender Tabelle zusammengestellt, wobei Spalte III die Prozentzahl der Fische mit Kiemendeckelverkürzung bei den vorhandenen Männchen, Spalte V bei den vorhandenen Weibchen und Spalte VII die Prozentzahl der Kiemendeckelverkürzungen bei allen untersuchten Fischen — Männchen und Weibchen zusammen — der einzelnen Kulturen angibt.

Tabelle V.

| Kultur | Menge der Fische mit Kiemendeckelverkürzungen | | | | | | Durchschnittslänge der Fische ohne Kiemendeckelverkürzung | Durchschnittslänge aller Fische mit und ohne Kiemendeckelverkürzung | Durchschnittslänge der Fische mit Kiemendeckelverkürzung |
|-------------------------|---|----------------------------------|----------|----------------------------------|--------------------------------|----------------------------------|---|---|--|
| | Männchen | | Weibchen | | Männchen und Weibchen zusammen | | | | |
| | Anzahl | Prozentsatz | Anzahl | Prozentsatz | Anzahl | Prozentsatz | | | |
| I untersucht 72 | 2 | 4,6 ⁰ / ₀ | 3 | 6,4 ⁰ / ₀ | 5 | 6,5 ⁰ / ₀ | 7,89 cm | 7,44 cm | 6,84 cm |
| II untersucht 95 | 7 | 16,6 ⁰ / ₀ | 10 | 18,8 ⁰ / ₀ | 17 | 17,9 ⁰ / ₀ | 7,07 cm | 6,96 cm | 6,47 cm |
| III untersucht 85 | 11 | 34,4 ⁰ / ₀ | 18 | 29,5 ⁰ / ₀ | 29 | 34,1 ⁰ / ₀ | 7,23 cm | 7,1 cm | 6,85 cm |
| IV untersucht 63 | 14 | 45,2 ⁰ / ₀ | 12 | 37,5 ⁰ / ₀ | 26 | 41,9 ⁰ / ₀ | 7,43 cm | 7,1 cm | 6,77 cm |
| V untersucht 34 | 9 | 47,4 ⁰ / ₀ | 7 | 46,7 ⁰ / ₀ | 16 | 47,1 ⁰ / ₀ | 7 cm | 6,9 cm | 6,87 cm |

Aus dieser Tabelle ist ohne weiteres zu ersehen, daß erstens mit zunehmender Überreife der Prozentsatz der Kiemendeckelverkürzungen erheblich steigt, zweitens, daß und zwar besonders in Überreifekulturen im männlichen Geschlecht mehr Kiemendeckelverkürzungen vorkommen als im weiblichen und drittens, daß die Durchschnittslänge der Fische mit Kiemendeckelverkürzung hinter derjenigen der normalen

Fische und auch noch hinter derjenigen aller Fische, einschließlich der Fische mit Kiemendeckelverkürzungen, zurückbleibt. Daraus kann man ersehen, daß es sich bei Fischen mit Kiemendeckelverkürzungen stets auch um Tiere handelt, die im Wachstum zurückgeblieben sind. Ob die Kiemendeckelverkürzung ursächlich für dieses Zurückbleiben im Wachstum war, oder ob sie nur eine häufige Begleiterscheinung oder sogar Folge solcher Wachstumshemmungen ist, deren Ursachen tiefer liegen, vermag ich hier nicht zu entscheiden. Wahrscheinlich ist beides richtig und arbeitet Hand in Hand miteinander.

Für die Kiemendeckelverkürzungen gilt also das Gleiche, was ich vordem schon über die Mißbildungen im allgemeinen gesagt habe. Man hat hier vielleicht oftmals den Grund anderweitig gesucht, während er darin lag, daß die Muttertiere überreif geworden waren. Durch Vererbung dürfte dieser Mangel dann noch verstärkt worden sein. Ein Beweis hierfür ist ja, daß bei der wildlebenden Bachforelle Kiemendeckelverkürzungen fast nie beobachtet werden, selbst in kleinen Gebirgsbächen, die in Seen mündeten, in welchen also Blutauffrischung ausgeschlossen war und diese auch durch Einsetzen nicht herbeigeführt wurde, habe ich keinerlei schädliche Wirkungen der Inzucht bemerken können.

V. Entwicklung der Geschlechtszellen, Geschlechtsdifferenzierung und Geschlechtsverhältnis.

Um das aus den Versuchen anfallende Material möglichst verlustlos ausnützen und untersuchen zu können, war es zunächst nötig, festzustellen, auf welchem Stadium der Entwicklung das Geschlecht der jungen Fischchen bereits erkannt werden kann. In der Literatur nun sind Angaben über Geschlechtsdifferenzierung bei Fischen nur spärlich zu finden. Für Forellen ist zumeist nur die Angabe zu lesen, daß Milchner im zweiten, Rogner im dritten Lebensjahr geschlechtsreif werden, was nicht einmal richtig ist; denn nach den neuesten Untersuchungen *Wohlgemuths* (1921) an der Teichwirtschaftlichen Versuchstation in Wielenbach haben sich dort vielfach schon Milchner der Regenbogenforelle im ersten Jahre mit reichlicher Milchabsonderung und lebensfähigem Sperma gefunden. *Wohlgemuth* wurde auf diese Tatsache auf Grund beobachteter Ernährungsstörungen und erhöhter Verlustziffern bei den einjährigen Regenbogenforellen aufmerksam, die sich während der Laichzeit anläßlich der regelmäßigen Fütterung, die bei zwei- und dreijährigen Fischen in dieser Periode unterbleibt, bemerkbar machten. Er glaubt, durch Abbrechen in der Fütterung in dieser Zeit jene Verluste beseitigen zu können. Über den Zeitpunkt der Geschlechtsdifferenzierung bei Forellen aber habe ich nahezu nirgends genaue Angaben finden können.

Ich lasse nun hier zunächst einige Angaben über die Entwicklungsgeschichte der Keimzellen und der Geschlechtsorgane bei den Fischen und hauptsächlich bei Salmoniden folgen, welche letztere überdies in der Literatur gar nicht sehr zahlreich zu finden sind.

A. Angaben anderer Autoren.

Für Knochenfische war *Nußbaum* (1880) der erste, der an einem drei Wochen alten etwa 4 mm langen Forellenembryo, in welchem von einem »Wolfschen Gange« oder Darmkanal nichts zu sehen ist, in der Gegend wo später die Rückenflosse entsteht, Zellen beobachtete, welche sich von den übrigen Zellen durch ihre Größe und die Größe ihrer Kerne auszeichneten. Übergänge von Peritonealzellen in diese Zellen fand er nicht. Andererseits glaubt er aber, daß auf späteren Stadien Follikelzellen aus Genitalzellen hervorgehen können. Die oben genannten auffallenden Zellen hielt *Nußbaum* für Urgeschlechtszellen und vermutete, daß sie schon auf den ersten Furchungsstadien eine von den Somazellen verschiedene Stellung einnehmen. Als Beweis dafür führt er an, daß die Geschlechtszellen ursprünglich vereinzelt und groß sind, später werden Zellnester gebildet, die lediglich durch Teilung der Geschlechtszellen entstehen; denn je mehr Zellen in einem Zellnest, desto kleiner sind dieselben. Durch Eindringen von Peritonealzellen werden die Zellnester aufgelöst. Andererseits glaubt *Nußbaum* aber zum Beispiel die Zwischensubstanz des Hodens als modifizierte Ureier ansehen zu dürfen.

Bezüglich der Bildung der Genitalfalten liegen Beobachtungen aus noch früherer Zeit von *Semper* (1875) bei Selachiern vor. Die Genitalfalten sollen hier als zwei von vorn nach hinten verlaufende Peritonealduplikaturen zwischen Segmentaltrichtern und Mesenterium entstehen.

Nach *Nußbaum* werden bei der Forelle zunächst die Genitalzellen von Peritonealzellen umwachsen, wodurch eine Leiste entsteht, die durch Teilung der Genitalzellen sich vergrößert. Es bilden sich Zellnester, die durch Hineinwuchern von Stromazellen in immer kleinere Gruppen zerlegt werden. Aus Genitalzellen sollen, wie schon erwähnt, sowohl Eizellen als auch Follikelzellen hervorgehen können.

MacLeod (1881) betont für *Hippocampus*, *Syngnatus* und *Gobius* ein verhältnismäßig spätes Auftreten der Geschlechtsorgane. Die Urgeschlechtszellen läßt er aus »Cölmzellen« hervorgehen. Die Geschlechtswand entsteht nach ihm dadurch, daß zunächst zwei bis drei Geschlechtszellen an der Oberfläche des Peritonealepithels einen kleinen Vorsprung bilden, der sich durch Zellvermehrung vergrößert, während sich sein Basalteil verengt, wodurch er ein keulenförmiges Aussehen erhält.

Auch *Brock* (1881) fand die Geschlechtsorgane bei Teleostiern erst ziemlich spät in der Entwicklung und beschreibt Übergänge zwischen Keimzellen und Peritonealzellen. Die Bildung der Ureierfalte und das Einwandern von Genitalzellen in ihr Stroma beobachtete er bei *Conger vulgaris*. Die laterale Seite der Falte wird als Keimseite, die mediale als Blutgefäßseite bezeichnet.

Hoffmann (1886) beschreibt beim Lachs schon sehr früh noch lange vor Bildung des Mesonephros sogenannte Vorkeimzellen, die er aus umgebildeten »Cölomzellen« herleitet. Später häufen sich die Genitalzellen zwischen den Nephrostomata der Urniere und der Radix mesenterii an und bilden hier die erste Anlage der Genitalfalte. Die Urkeimzellen vermehren sich dann durch Teilung aus ihresgleichen und Neubildung aus dem Cölomepithel. Die laterale Seite der Genitalfalte hat größere und höhere Zellen und wird als Keimseite bezeichnet, die mediale Seite führt Blutgefäße und wird deshalb Blutgefäßseite genannt. Die angehäuften Genitalzellen bilden Zellnester, die von anderen Zellen follikelartig umhüllt werden. Ob diese Follikelzellen aus Bindegewebszellen oder Peritonealzellen bzw. dem Keimepithel hervorgehen, entscheidet er nicht, neigt aber mehr zu letzterer Ansicht. Der Länge nach erstreckt sich die Genitalfalte vom Pronephros bis zu den Pori abdominales. Die »Ureier« befinden sich im vorderen Drittel und fehlen weiter rückwärts. Erhöhte Peritonealzellen erzeugen hier durch Einstülpung und Rinnenbildung einen Kanal, der anfangs aber kaum eine Lichtung besitzt. Beim Männchen besteht dieser Kanal fort, beim Weibchen wird er rückgebildet.

Jungersen (1889) machte Studien an Aalmutter, Flußbarsch, Bitterling, Scholle, Felchen und Dorsch. Von späteren Stadien auch an Grundel, Hecht, Stichling und Kaulbarsch und noch einer Reihe anderer Fische, insgesamt an 23 Arten. Die Genitalzellen traten am frühesten bei *Zoarces* auf, wo sie bei Embryonen von 2 mm Länge schon zu erkennen waren. Beim Barsch waren sie erst bei 4 mm Länge, beim Bitterling bei 5 bis 6 mm Länge, bei Dorsch, Scholle und Felchen bei 4,5 mm Länge zu sehen, während bei Nerflingen von 6 bis 7 mm, bei Heringen von 9 bis 10 mm und Glasaalen von 65 bis 71 mm Länge nichts Derartiges gefunden werden konnte. Der Ort des Auftretens lag lateral zwischen Epiblast und Periblast. Die Frage über die Herkunft der Genitalzellen läßt *Jungersen* eigentlich offen; neigt aber zu der Ansicht, daß die ersten wohl durch Umbildung aus Peritonealzellen entstehen, späterhin sich aber nur mehr durch Teilung vermehren und dann keine Umbildungen mehr stattfinden. Die Genitalfalte bildet sich bei *Salmo fario*, *Coregonus lavaretus* und *Rhodeus amarus* durch Umwachsung der Genitalzellen durch Peritonealzellen. Bei *Perca* und *Gadus* bilden die Genitalzellen vor Entstehung der

eigentlichen Genitalfalte zunächst einen kleinen Haufen bzw. kleine Vorsprünge, was bei *Zoarces* besonders ausgeprägt ist, wo zuerst lediglich eine bedeutende Anhäufung von Genitalzellen die Genitalfalte erzeugt und die Peritonealzellen sich erst später an deren Ausbildung beteiligen. Eine Umbildung von Genitalzellen in Peritonealzellen oder umgekehrt wurde nicht beobachtet, ebensowenig eine Einwanderung fremder Gewebsmassen in die Genitalfalten; diese werden nach wie vor nur aus Genitalzellen und Peritonealzellen gebildet. — Den entwicklungsgeschichtlichen Angaben betreffs der Keimzellen späterer Stadien bei *Jungersen* kann ich im allgemeinen beipflichten. Nur muß ich betonen, daß ich eine Verbindung der beiden Gonaden durch irgendwelches Gewebe wie er es z. B. bei Männchen von *Zoarces* und *Perca* angibt, für *Salmo irideus* niemals feststellen konnte. Die Gonaden lagen in beiden Geschlechtern stets vollständig voneinander getrennt, wie überhaupt *Jungersen's* Angaben in morphologischer Hinsicht auf die Forellengonaden keine Anwendung finden können.

Über den Zeitpunkt der Geschlechtsdifferenzierung sind bei *Jungersen* nähere Angaben enthalten. Bei *Zoarces* waren schon bei 18 bis 29 mm Länge die Geschlechter dadurch zu unterscheiden, daß im weiblichen Geschlecht die Gonaden unpaar wurden. Ebenso war es bei Barschen von 15 bis 35 mm Länge im Alter von etwa 1 bis 2 Monaten. Einjährige Barschmännchen waren bereits geschlechtsreif. Beim Kaulbarsch ist mit 13 bis 15 mm Länge das Geschlecht zu unterscheiden und zwar durch morphologische Unterschiede, ebenso bei Stichlingen von 12 bis 17 mm Länge und bei Gründlingen von 13 mm Länge. Bei weiblichen Bitterlingen von 11 mm Länge ist durch deutliche Eientwicklung das Geschlecht zu erkennen, ebenso bei weiblichen Hechten von 60 mm Länge.

Über den Zeitpunkt der Geschlechtsdifferenzierung bei *Salmo fario* findet sich bei *Jungersen* folgende Angabe (S. 169): »Bei *Salmo fario* finde ich, daß unter sonst gleich entwickelten Individuen (es sind hier Altersstadien gemeint, auf welchen die Keimzellen noch keinerlei Geschlechtsunterschiede zeigen! Anm. d. Verf.) sich bei einigen der Genitalzellen enthaltende Teil der Geschlechtsanlage bedeutend weiter nach hinten erstreckt als bei anderen; da bei den Erwachsenen die Hoden beinahe bis in das Hinterende der Bauchhöhle reichen, während das Ovarium nur den vorderen und mittleren Teil dieser einnimmt, werden erstere Junge unzweifelhaft sich zu Männchen ausbilden. Vielleicht ist bei *Salmo* die Geschlechtsdifferenz ganz von Anfang an von dem ersten Auftreten der Geschlechtszellen ausgesprochen, was ich nicht verfolgt habe.«

Es ist nun allerdings richtig, daß auf jungen Stadien der keimzellenführende Teil der Gonade viel weiter kaudal reicht als auf älteren.

Doch ist dies bei allen Fischchen solchen Alters der Fall und die Unterschiede in der Länge dieses Teils sind gering. Wohl ist auf älteren Stadien der keimzellenführende Teil des Hodens länger als der des Ovars, doch daß der Hoden bis ans Ende der Bauchhöhle reicht, habe ich bei den Altersstufen, die ich untersuchte, also bis zum 337 Tage nach der Befruchtung, niemals feststellen können. Man vergleiche meine später folgenden Messungen und Abbildungen! Bei der großen Labilität, die sich außerdem in bezug auf Geschlechtsbildung aus meinen Untersuchungen ergibt, halte ich es für bedenklich, schon auf so frühen Stadien aus geringfügigen Unterschieden auf ein definitives Geschlecht schließen zu wollen. Auch *Felix* (1906) konnte bei *Salmo salar* den von *Jungersen* für *Salmo fario* angegebenen Unterschied nicht finden und gibt an, daß bei in Gefangenschaft aufgezogenen Lachsen der Eintritt der Geschlechtsdifferenzierung ein halbes Jahr nach der Befruchtung erfolgte.

Untersuchungen, welche auf die von *Jungersen* folgten, haben eine Absonderung der Geschlechtszellen auf verhältnismäßig frühen Stadien der Entwicklung ergeben und auch die Herleitung derselben von irgendwelchen bereits differenzierten Somazellen unwahrscheinlich gemacht.

Bei *Cymatogaster* fand *Eigenmann* (1896) eine Absonderung schon mit der 5. Furchungsgeneration.

Bei *Petromyzon* fand *Wheeler* (1899), bei *Raja batis* *Beard* (1900) ebenfalls schon Genitalzellen auf sehr frühen Stadien.

Woods (1902) fand bei *Acanthias* Geschlechtszellen auf Stadien noch vor Bildung des Embryo.

All diese Beweise für frühe Absonderung der Genitalzellen legen die Annahme ihrer Unabhängigkeit von somatischen Zellen nahe.

Loew (1903) fand beim Maifisch keine Übergänge von Peritonealepithelzellen in Keimzellen. Er sah aus ersteren nur Follikelzellen sich bilden.

Böhi (1904) bespricht in seiner Arbeit mit Ausnahme des letzt-erwähnten alle die vorgenannten Autoren eingehend. Nach seinen Angaben sind bei der Forelle (*Salmo fario*) bereits am 25. Tage — nach *Federow* (1907) schon am 18. Tage — nach der Befruchtung sowohl in der Somatopleura als auch in der Splanchnopleura der Seitenplatten Gebilde zu beobachten, »die zwischen ‚Cölomzellen‘ eingelagert sich von diesen sowie auch von den übrigen somatischen Zellen durch ihre auffallende Größe unterscheiden«. Ein weiterer Unterschied gegenüber den »Cölomzellen« ist das viel geringere Tinktionsvermögen der Kerne. Das Protoplasma färbt sich mit gewöhnlichen Farben nicht und ist nach *Böhi* ohne nachweisbare Struktur. Die Kerne sind granuliert und lassen bei jungen Stadien keine Kernkörperchen erkennen.

Nach *Federow* (1907) ist das Protoplasma körnig und haben die Kerne ein breitmäschiges Chromatinnetz und auf allen Stadien mehrere Nukleolen.

Mitosen erwähnt *Böhi* nicht. Auch *Federow* konnte, wie er ausdrücklich angibt, keine auffinden. Bei einem etwas weiter fortgeschrittenen Stadium beim Lachs, 31 Tage nach der Befruchtung, zeigt *Böhi* in seiner Abb. 26 die Lagerung der Genitalzellen in der Splanchnopleura dorsolateral vom Darm, ventral von den primären Harnleitern. *Böhi* unterscheidet in der Entwicklung der Keimdrüsenanlage das Stadium der Genitalleiste und das der Genitalfalte. Erstere ist eine einschichtige solide Verdickung des Cölomepithels, nur aus »Cölomzellen« und Genitalzellen bestehend. Durch Vorwachsen in die Leibeshöhle und Ausbildung eines Stromakerns im Innern wird sie zur Falte. In der Genitalleiste bzw. Genitalfalte werden 3 Abschnitte unterschieden: Der progonale, kopfwärts gelegen, der epigonale, schwanzwärts, und dazwischen der gonale Abschnitt, in welchem die Keimzellen liegen. Bei einem Lachsembryo von 60 Tagen nach der Befruchtung wurden die ersten Anzeichen einer Genitalleistenentwicklung etwa in der Mitte des späteren gonalen Abschnittes beobachtet. Diese Anlage der Genitalleiste ist jedoch noch eine diskontinuierliche aus einzelnen hintereinander gelegenen Verdickungen des Cölomepithels bestehende. Jede dieser Verdickungen ist an eine Genitalzelle gebunden, sie entsteht durch Vergrößerung der »Cölomzellen« und durch Vermehrung derselben. Ein Teil der Genitalzellen erscheint bereits von »Cölomzellen« umwachsen. Metamerie wurde nicht beobachtet. Die einzelnen Verdickungen fließen dann zu Leistenanfängen zusammen, kranial und kaudal davon legen sich neue Verdickungen an. Die größte Ausdehnung der Genitalleiste wurde bei einem 185 Tage alten Lachs beobachtet. Sie endete hier zwischen 40. und 41. Rumpfsegment, also noch kaudal vom After, der im 40. Rumpfsegmente lag. Während im progonalen und epigonalen Abschnitt die Genitalleiste noch in Bildung begriffen ist, entwickelt sich in der Mitte des gonalen Abschnittes aus der Genitalleiste ebenfalls diskontinuierlich die Genitalfalte, indem die in der Genitalleiste bisher in geschlossener Masse vorhandenen »Cölomzellen« auseinanderweichen. Es treten mit Flüssigkeit gefüllte Lücken zwischen ihnen auf. Im Alter von 92 Tagen ist die Genitalfalte auch schon im pro- und epigonalen Abschnitt gebildet. Die Totallänge der Genitalfalte schwankt nach vollendeter Ausbildung etwa am 185. Tage nach der Befruchtung zwischen 27 und 32 Rumpfsegmentbreiten und beträgt im Mittel deren 29. Weder Längen- noch Höhenwachstum der Genitalfalte stehen mit dem Alter oder dem Längenwachstum des Tieres in irgendeinem genaueren proportionalen Verhältnis. Die Form der Genitalfalte ist verschieden. Auf früheren Stadien soll sie konisch

sein. Besonders solange sie nur aus »Coelomzellen« und Stromazellen besteht. Treten mehr und mehr Genitalzellen auf, so geht die Gestalt in Birnenform über. Gegen die Insertionskante zu soll gewöhnlich eine Verjüngung stattfinden, so daß sie mit der Coelomwand durch eine Art Stiel verbunden ist; — Ligamentum suspensorium nach *Mac Leod*.

Die Lage und Stellung der Genitalfalte wird in hohem Grad beeinflusst von der Lage und dem Füllungszustande der benachbarten Organe, besonders Schwimmblase und Harnblase. Normalerweise liegen die Genitalfalten parallel der Medianlinie auf gleicher Höhe, ventral der primären Harnleiter, dorsal vom Darm. Durch das Auftreten der Schwimmblase und den Umstand, daß dieselbe oft bis zu $\frac{2}{3}$ in die linke Bauchhälfte zu liegen kommt, wird die linke Genitalfalte tiefer in die Leibeshöhle herabgedrängt als die rechte.

In Übereinstimmung mit *Nussbaum* und *Jungersen* und im Gegensatz zu *Mac Leod* soll die Genitalfalte aus »Coelomzellen« hervorgehen.

Etwa mit dem 185. Tage tritt eine gewaltige Vermehrung der bis dahin ziemlich konstanten Zahl der Genitalzellen ein. Platz wird geschaffen durch Wachstum der Genitalfalte und Ausfüllen aller vorhandenen Lücken. Die Genitalzellen liegen bald nesterweise vereinigt, bald vereinzelt. Nester sowohl als einzelne Zellen sind fast stets von Follikelzellen umkleidet. Follikelzellen drängen sich zwischen die Genitalzellen der Nester und bringen bald kleinere Gruppen, bald einzelne Zellen zur Isolierung.

Die »Coelomzellen« liegen an der medialen und an der lateralen Fläche der Genitalfalte, auch an deren Kuppe und in ihrem Innern. Aus ihnen gehen nach *Böhi* indifferente Zellen, Follikelzellen und Keim-epithel hervor. Follikelzellen sind keine histologisch umgewandelten, sondern lediglich durch Druck in ihrer Form veränderte »Coelomzellen«. Sie treten erst häufiger auf, wenn die Genitalzellen an Zahl zunehmen.

Vom 185. bis 199. Tage nach der Befruchtung vergrößern sich die Zellen der lateralen Oberfläche der Genitalfalte. Die Zellen der medialen Fläche verändern sich nicht. Die erstgenannten sollen die Fähigkeit besitzen, sich in Genitalzellen umzuwandeln. In diesem Zeitabschnitt soll es allenthalben gelingen, Übergänge zwischen einfach vergrößerten »Coelomzellen« und Genitalzellen zu finden.

Den Ausdruck »Coelomzellen« habe ich bisher stets unter Anführungszeichen gebracht, da ich mir unter demselben eigentlich nichts Rechtes vorstellen kann. *Böhi* gebraucht die Ausdrücke Coelomzellen und Peritonealzellen nebeneinander, ohne daß mir je klar geworden ist, ob er darunter ein und dasselbe meint oder nicht.

Das Auftreten der oben erwähnten Übergangszellen währt nach *Böhi* nur kurze Zeit. Am 227. Tage nach der Befruchtung konnte

es schon nicht mehr festgestellt werden. Dagegen soll zu dieser Zeit Bindegewebe in die Genitalfalte einwandern. Auch läßt sich von da an eine laterale oder Keimseite und eine mediale oder indifferente Seite der Genitalfalte unterscheiden. In letzterer liegen die Blutgefäße.

Über den Zeitpunkt der sexuellen Differenzierung findet sich nirgends ein Wort erwähnt.

P. Okkelberg (1921) beschreibt beim amerikanischen Flußneunauge *Entosphenus wilderi* eine Absonderung der Urgeschlechtszellen auf jenem Stadium der Larve, auf welchem das Mesoderm sich vom Entoderm abzusondern beginnt. Diese Zellen wandern dann in die Gegend der Geschlechtsdrüsenanlage. Okkelberg bestreitet entschieden, daß die Urgeschlechtszellen durch Umbildung von Somazellen entstünden. Die Genitalfalte bildet sich, indem mehrere Genitalzellen zunächst gegen das Peritonealepithel eine Einbuchtung bilden, die sich mit der Zeit vergrößert. Das Stroma und die Follikel­epithelzellen werden von einwandernden Peritonealepithelzellen und zum kleineren Teile von Mesenchymzellen gebildet. Eine Umwandlung von Genitalzellen in Follikelzellen oder in Stromazellen oder umgekehrt wurde nie beobachtet. Die Genitalzellen in der Genitalfalte vermehren sich zunächst nur durch Einwanderung, sodann durch Teilung. Die Mitosen wurden genau studiert und beschrieben. Ferner fand Okkelberg, daß beim Neunauge lange Zeit die Gonaden auf einem Stadium geschlechtlicher Indifferenz verharren, so daß es schwer fällt, das künftige Geschlecht zu bestimmen. Ovocyten (weiblicher Typ) und Cysten (männlicher Typ) finden sich in jeder Gonade. Erst allmählich gehen entweder die Cysten oder die Ovocyten zugrunde, je nachdem sie in der Minderzahl sind. Bei zu Weibchen bestimmten Individuen ist das Geschlecht leichter und früher zu erkennen, bei Männchen jedoch finden sich oft noch im reifen Hoden einzelne Ovozyten eingesprengt.

B. Eigene Beobachtungen.

1. Mikroskopische Untersuchungen.

a) Entwicklung und Differenzierung der Geschlechtsdrüsen.

Nachdem es sich in der vorliegenden Arbeit hauptsächlich darum handelte, festzustellen, zu welchem Zeitpunkte nach der Befruchtung frühestens die Differenzierung des Geschlechtes wahrgenommen werden könne, so blieben die Stadien vor dem Ausschlüpfen und vor Resorption der Dotterblase unberücksichtigt. Ich kann also hier den Angaben der vorgenannten Autoren nichts hinzufügen. Auch will ich mit dem Nachstehenden keine Entwicklungsgeschichte der Geschlechtszellen der Regenbogenforelle liefern, sondern möchte in diesem Kapitel lediglich einen Beitrag zur Kenntnis der Differenzierung des Geschlechtes bei Salmoniden geben, vor allem über dessen Zeitpunkt:

denn war es Zufall, daß ich gerade in der mir erreichbaren Literatur so wenige Angaben hierüber fand, oder ist tatsächlich diese Frage für die Forelle noch nicht berücksichtigt worden, jedenfalls war für meine Untersuchungen die Ermittlung dieses Zeitpunktes wichtig und war ich, da ich keine genauen Angaben finden konnte, auf mich selbst angewiesen.

Es wurden zu diesem Behufe von verschiedenen Altersstadien zwischen dem 90. und 337. Tage nach der Befruchtung von allen Kulturen Schnittpräparate sowohl ganzer Fische, als auch einzelner Gonaden angefertigt; im Ganzen 253 Stück.

Als erstes schnitt ich Bachforellen in einem Alter von 20 Tagen nach Resorption der Dotterblase, also etwa 90 Tage nach der Befruchtung; sodann Regenbogenforellen meiner Kulturen, beginnend mit dem 121. Tage nach der Befruchtung. Die Fischchen waren teils in Schaudinn, spätere Stadien in Pikrinessigsäure, andere in Bouin fixiert. Fischchen von 25 mm Länge ab muß man beim Fixieren zuvor den Bauch aufschneiden. Zum Fixieren genügen anfangs 5—6 Stunden, spätere Stadien brauchen entsprechend länger. Je 12 später 24 stündiges Belassen in den Alkoholen genügt auch bei Fischen von etwa 7 cm Länge. Längeres Verweilen auch in 70%igem Alkohol ist immer etwas schädlich. Gefärbt wurden [die Schnitte nach *Delafield* und andere nach *Heidenhain*, Plasmafarben Eosin oder Lichtgrün. Schnittstärke meist 10 μ . Vereinzelt dünner. Ältere Stadien müssen sehr sorgfältig fixiert werden, ein Fischchen von etwa 7 cm Länge z. B. mindestens 12 Stunden, sonst können im Xylol-Paraffin und Paraffin arge Schrumpfungen eintreten.

Vor allem konnte ich beobachten, daß *Salmo irideus* eine bei weitem raschere Entwicklung in jenen Stadien durchläuft, als *Salmo fario* und besonders *Salmo salar*; denn die Bilder, die ich von einer Regenbogenforelle meiner Kultur V 121 Tage nach der Befruchtung erhielt, waren weit voran, denjenigen der Bachforelle von etwa 90 Tagen und besonders den Bildern, die *Böhi* von einem Lachs mit 185 Tagen und selbst von 227 Tagen gibt. Während auf letzteren nur ganz wenige Keimzellen bemerkbar sind und die Vermehrung eben erst beginnt, finden sich schon bei meiner 121 Tage alten *Salmo irideus* massenhaft Keimzellen auf allen Größenstadien, ja vielfach sind die Gonaden schon differenziert. Aber auch die Schnitte durch meine etwa 90tägige *Salmo fario* sind im Vergleich zu einem 199 Tage alten Lachs *Böhis* sehr in der Entwicklung voraus; denn sie zeigen ungefähr das gleiche Bild mit diesem, nämlich ausgebildete Genitalfalte, während ein 85tägiger Lachs *Böhis* gerade erst die ersten Anfänge der Genitalleiste bildet.

Eine Erklärung hierfür gibt es allerdings: Das Wielenbacher Quellwasser, das im dortigen Bruthaus zur Anwendung kommt, hat eine

Temperatur von etwa 9° C. Meine Aquarien, in welchen meine Kulturen ungefähr vom 70. Tage nach der Befruchtung an gehalten wurden, hatten eine solche von 12° C. Unter welchen Bedingungen jedoch *Böhls* Forellen und Lachsserien heranwuchsen ist mir unbekannt. Waren diese auch nur um einige Grade in der Wassertemperatur niedriger, als die meinigen, so ist der Unterschied geklärt. Denn, wie schon erwähnt, übt ja die Temperatur auf die Schnelligkeit der Entwicklung gerade bei den Salmoniden einen sehr maßgebenden Ein-

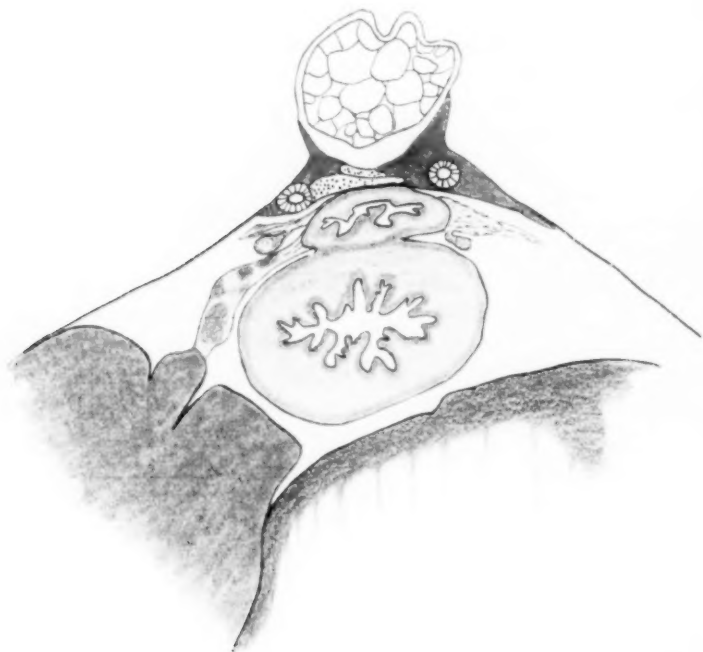


Abb. 1. Querschnitt durch eine Bachforelle 90 Tage nach der Befruchtung. Zur Orientierung über die Lage der Geschlechtsfalten. Beschreibung siehe Text, gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 3, Leitz-Okular 1, Tubuslänge 168 mm. Vergrößerung etwa 2½fach.

fluß aus. Man muß somit beim Vergleich von Entwicklungsstadien bezüglich der Arbeiten anderer Autoren äußerst vorsichtig zu Werke gehen und darf sich durch evtl. Unterschiede nicht beirren lassen, sofern die Temperaturverhältnisse, unter welchen die zu vergleichenden Entwicklungen verliefen, nicht bekannt sind, oder zum mindesten Angaben über die Länge der verschiedenen Entwicklungsperioden vorliegen, wie Zeitdauer von der Befruchtung bis zum Ausschlüpfen, bis zur Resorption der Dotterblase und dergleichen. Ich verweise hier als Beispiel auf die Angaben von *Felix* (1906), daß Lachs und Forelle

etwa am 100. Tage nach der Befruchtung ausschlüpfen. Diese Angabe besagt absolut nichts, wenn nicht die Wassertemperatur bei der Entwicklung mit angegeben wird. Bei meinen Kulturen z. B., die bei 9° C aufwuchsen, begann das Schlüpfen schon mit dem 36. Tage nach der Befruchtung. Ähnlich steht es mit den Angaben von *Felix*, daß die Genitalleiste zum erstenmal bei Lachsembryonen aus dem 60. Tage der Entwicklung nachzuweisen ist.

Es folgt nun die Schilderung meiner Schnittpräparate auf den verschiedenen Altersstadien, wobei ich bemerken möchte, daß es sich, wenn nichts besonderes bemerkt ist, stets um Querschnitte handelt.

Auf meinen Schnittpräparaten von Bachforellen etwa 90 Tage nach der Befruchtung fand ich also Bilder, die sich mit denjenigen *Böhis* vom Lachs 199 und 227 Tage nach der Befruchtung decken (Abb. 1). Schwimmblase ist bei diesen Tieren bereits vorhanden. Die Gonaden befinden sich, um mich der Bezeichnung *Böhis* zu bedienen, auf dem Stadium der Geschlechtsfalte. Geschlechtsunterschiede sind noch nicht zu erkennen. Alle Fische, die man auf diesem Stadium schneidet zeigen das gleiche Bild, auch in Bezug auf die Gonaden. Nur daß sich beim einen Fisch mehr, beim anderen weniger Urkeimzellen in den Geschlechtsfalten befinden. Ventral von den primären Harnleitern liegt die Schwimmblase, meist aber nicht in der Mitte zwischen beiden, sondern durch den Darm nach links abgedrückt, besonders wenn sie beim Fixieren des Fisches aus irgendeinem Grund die Luft verloren hat und infolgedessen geschrumpft ist. Ventral hiervon zu beiden Seiten des Darmes liegen die Geschlechtsfalten mit dem Peritonealepithel durch eine dünne Leiste verbunden. Auf Schnitten weiter kaudal, wo der Darm größere Dimensionen annimmt, ist die linke Geschlechtsfalte stärker zur Seite gedrängt. Auf Präparaten, in welchen die Schwimmblase nicht geschrumpft ist, ist durch letztere die linke Gonade mehr ventral herabgedrückt, wie auch *Böhi* richtig bemerkt hat. Die Fische führen in diesem Alter noch reichlich Dotter, schneiden sich aber trotzdem sehr gut. Was die innere Struktur der Geschlechtsfalten betrifft, so habe ich nicht viel Besonderes zu sagen (Abb. 2). Die Urkeimzellen sind große Zellen, von blassem Aussehen, die Kerne sind groß und rund, besitzen ein feines Chromatinnetz und mehrere Nukleolen. Das Plasma ist feinkörnig. Die umgebenden Zellen unterscheiden sich in nichts von den übrigen Peritonealzellen höchstens durch etwas intensivere Färbbarkeit. Zellgrenzen sind selten deutlich. Wenn ich diese Zellen respektive deren Abkömmlinge späterhin als Stromazellen bezeichne, so sollen damit nur die durch einfache Zellteilung der ursprünglichen Peritonealzellen entstandenen Nachkommen derselben gemeint sein, welche innerhalb der Keimdrüse die Geschlechtszellen umgeben. Denn von einem eigentlichen Stroma, wie z. B. bei

Säugetieren und Selachiern kann bei Knochenfischen nicht gut gesprochen werden, wie das auch schon *Semper* (1875) und später *Jungersten* (1899) richtig konstatiert haben. Nachdem das eben besprochene Stadium demjenigen sehr ähnlich sieht, auf welchem *Böhi* Übergänge von Peritonealzellen in Geschlechtszellen bemerkt haben will, habe ich meine Schnitte und auch alle späteren auf diesen Punkt hin aufs Genaueste untersucht.

Ich muß gestehen, daß auch ich mehrmals Bilder gefunden habe, die dem von *Böhi* in seiner Abb. 36a wiedergegebenen vollkommen ähnlich waren. Man kann sich hier dem Eindruck schwer verschließen.

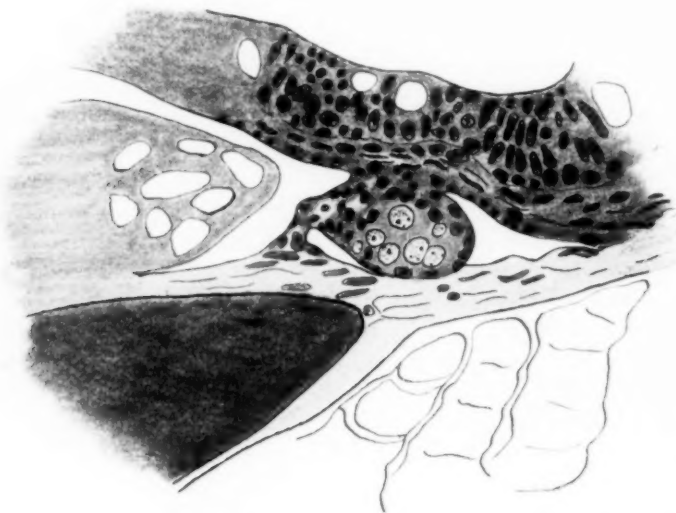


Abb. 2. Querschnitt durch die rechte Gonade und deren Umgebung von einer Bachforelle 30 Tage nach der Befruchtung. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 7, Leitz-Okular 1. Tubuslänge 168 mm, Vergrößerung etwa 208fach.

daß tatsächlich Übergangsstadien zwischen Peritonealzellen und Geschlechtszellen vorhanden sind. Zumal die von mir gewählte Schnitt-dicke von $10\ \mu$ es als ausgeschlossen erscheinen läßt, daß diese Übergangsstadien nichts anderes sind, als angeschnittene Urkeimzellen. Immerhin dürfte es schwer sein, zu beweisen, daß der erwähnte Eindruck einwandfrei richtig ist.

Mitosen habe ich auf dem besprochenen Stadium nicht bemerken können. Die Bemerkung wie *Böhi* (1904) und *Felix* (1906), daß zu bestimmter Zeit in der Entwicklung eine plötzliche Vermehrung der Keimzellen auftritt, wobei gleichzeitige Übergangsbilder von »Coelomzellen« zu Keimzellen besonders deutlich sind, konnte ich nicht machen.

Der Zuwachs an Größe der Gonade und Zahl der Keimzellen geschah vielmehr stets kontinuierlich.

Manchmal waren die Geschlechtssalten so dicht an den Darm angedrückt, daß eine Verbindung mit dem diesen umgebenden Peritonealepithel entstand. An solchen Stellen fand reichlich Einwanderung von Peritonealepithelzellen in die Geschlechtssalte statt (s. Abb. 2). Keimseite und Blutgefäßseite sind hier noch nicht unterscheidbar.

Das nächste Altersstadium, das ich auf Schnitten untersuchte, waren Regenbogenforellen meiner Kulturen im Alter von 121 Tagen nach der Befruchtung. In diesem Alter war die Schwimmblase in voller Ausdehnung vorhanden, der Dotter verschwunden, die



Abb. 3. Querschnitt durch die rechte Gonade einer Regenbogenforelle, 121 Tage nach der Befruchtung, männliche Tendenz; Keimzellen zystenartig angeordnet. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 7, Zeiss-Kompens.-Okular 6, Tubuslänge 169 mm, Vergrößerung etwa 2 3fach.



Abb. 4. Querschnitt durch die rechte Gonade einer Regenbogenforelle, 121 Tage nach der Befruchtung, Degeneration der großen eizähnlichen Keimzellen; erster Schritt zur männlichen Tendenz. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet mit Leitz-Mikroskop, Zeiss-Ölimmersion Apochromat 2 mm, Zeiss-Okular 6, Tubuslänge 152 mm, auf Objekttischhöhe, Vergrößerung etwa 312fach.

Appendices pyloricae bereits voll ausgebildet. Die Gonaden waren ungefähr doppelt bis viermal so groß wie bei den Bachforellen 90 Tage nach der Befruchtung. Sie lagen zu beiden Seiten der Schwimmblase in reichlichem Abstand vom Darm, mit dem die Schwimmblase umgebenden Gewebe nur noch durch ein schmales Band verbunden, so daß eine Einwanderung von Peritonealepithel- oder sonstigen Zellen nicht mehr möglich ist. Der innere Bau weist schon gewisse Unterschiede auf. Bei der einen Art der Gonaden, deren Tendenz ich als *männlich* bezeichnen möchte, haben sich die Keimzellen stark vermehrt und liegen mehr oder minder deutlich in Gruppen. Die Zellgrenzen sind un-

deutlich. Diese Gruppen sind von früheren Peritonealepithelzellen, deren Zahl sich ebenfalls, aber etwas weniger vermehrt hat, umgeben. Letztere Zellen sind häufig abgeflacht wie Follikelzellen. Es bildet sich so eine Art Cysten, die dadurch entstehen, daß zwischen den einzelnen sich vermehrenden Gruppen der Keimzellen die Stromazellen flach gedrückt werden. Innerhalb dieser Cysten nehmen die Keimzellen immer mehr an Zahl zu, was natürlich auf Kosten ihrer Größe geht (Abb. 3).

Die Keimzellen haben überhaupt an Größe wenig zugenommen. Die Vermehrung derselben dürfte jetzt nur noch durch Teilung vor sich gehen, da eine Einwanderung infolge der schmalen Beschaffenheit des Aufhängebandes der Gonaden kaum mehr denkbar ist. Die Teilungen scheinen sich rasch zu vollziehen; denn man findet Teilungsstadien nicht häufig. Immerhin konnte ich Chromosomenbildung hier und da konstatieren. Die für die Bachforelle angegebene Zahl von 12 Chromosomen dürfte, soweit ich davon Zählungen machen konnte, auch bei der Regenbogenforelle richtig sein.

Oft können auch die Keimzellen noch unregelmäßig zerstreut sein. — ein offenbar weniger weit entwickeltes Stadium — dann sind auch die Stromazellen noch wenig abgeflacht. Vereinzelt finden sich Keimzellen von beträchtlicher Größe, die den Eindruck von Eiern machen. Manche hiervon sind jedoch in Zerfall begriffen, indem die Kernmembran aufgelöst und das Chromatin mehr oder weniger zerstreut ist (Abb. 4).

Abb. 5. Querschnitt durch die rechte Gonade einer Regenbogenforelle 121 Tage nach der Befruchtung, weibliche Tendenz. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop. Leitz-Objektiv 7, Zeiss-Kompens. Okular 6, Tubuslänge 169 mm, Vergrößerung etwa 203fach.



Daß zunächst die Gonade sich bei sämtlichen jungen Fischchen in weiblicher Richtung mehr oder weniger weit entwickelt, scheint zum mindesten bei Salmoniden die Regel zu sein. Felix (1906) z. B. fand »daß alle von ihm untersuchten jungen Männchen von *Salmo salar* in dem vorderen Abschnitt ihrer Genitaldrüse vollständig ausgebildete Eier zeigten.« Leider ist über das genaue Alter der Fischchen sowie über die Dauer dieses Zustandes nichts Näheres angegeben.

Keimseite und Blutgefäßseite sind im Alter von 121 Tagen nach der Befruchtung des öfteren bereits zu erkennen. Und zwar liegt die Blutgefäßseite stets medial gegen den Darm zu, während die Keimseite lateral gelegen ist. Doch möchte ich diese Bezeichnungen nicht im Sinne Brocks angewendet wissen, nämlich, als ob laterale und

mediale Seite der Genitalfalte sozusagen als Keimseite und Blutgefäßseite aus histologischen Gründen prädestiniert seien. Meiner Auffassung nach ist das Hervortreten dieses Unterschiedes mindestens bei Forellen lediglich auf mechanische Gründe zurückzuführen, indem die sich vermehrenden Keimzellen die Stromazellen nach einer Seite abdrängen.

Andere Bilder zeigen jene Gonaden, die *weibliche Tendenz* haben (Abb. 5). Hier haben sich die Keimzellen kaum vermehrt, dagegen haben sie beträchtlich an Größe zugenommen. Die Stromazellen haben sich etwas vermehrt; wo zwei Keimzellen durch ihr Größenwachstum

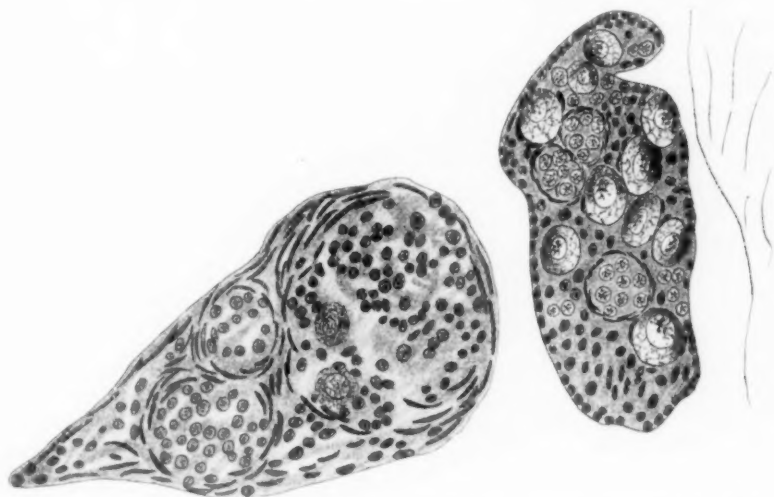


Abb. 6. Querschnitt durch die rechte Gonade einer Regenbogenforelle der Kultur V, 124 Tage nach der Befruchtung. Die Gonade in zwei Teile zerschnürt. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet auf Objektschleife mit Leitz Mikroskop, Leitz-Objektiv 7, Zeiss-Kompens.-Okular 6, Tubuslänge 152 mm, Vergrößerung etwa 202fach.

nahezu zusammenstoßen, sind die Stromazellen zwischen ihnen flach gedrückt; in den vielfach noch vorhandenen Zwischenräumen haben sie jedoch noch ihre ursprüngliche, rundliche oder längliche Gestalt beibehalten. Umwandlungsbilder von Geschlechtszellen in Follikelzellen habe ich nie bemerkt.

Das eben beschriebene Verhalten zeigen in diesem Alter auch die Überreifekulturen und waren hier gewöhnlich keine Unterschiede zu bemerken, auch nicht im Zeitpunkt der Differenzierung. Ein Fisch von K. V zeigte jedoch recht sonderbare Bilder. Die Gonaden hatten am kranialen Ende ein Aussehen, von dem man nicht sagen kann, ob es mehr für eine weibliche oder mehr für eine männliche Tendenz spricht; denn sowohl große eiförmige Zellen sind zahlreich vorhanden,

von denen sich keine in Degeneration befindet, als auch mehrere Gruppen kleinerer Keimzellen cystenartig von flachen Follikelzellen eingeschlossen. Dies wäre noch nichts Besonderes; denn solch zweifelhafte Stadien macht schließlich jede Gonade durch. Anders wird es gegen die Mitte der Gonade zu. Die linke Gonade behält ihren zweifelhaften Charakter bei und macht bald einen mehr weiblichen, bald auf einem anderen Schnitt wieder einen mehr männlichen Eindruck. Die rechte Gonade hingegen hat sich in zwei Teile zerschnürt, von denen der mehr dorsal gelegene einen halbwegs weiblichen, der ventral gelegene einen männlichen Charakter trägt (Abb. 6). Aus der Abbildung ersieht man am besten, wie die Überreifekulturen schon sehr früh Unregelmäßigkeiten bei der Geschlechtsbildung und Zwischenformen aufweisen.

In einem Alter von 131 Tagen nach der Befruchtung sind schon viele Fische in der Differenzierung ziemlich fortgeschritten. Immerhin sind aber noch zahlreiche Tiere von unentschiedener Tendenz vorhanden. Im männlichen Geschlecht haben sich oft schon durch Eindringen der Follikelzellen die Cysten aufgelöst und die Geschlechtszellen liegen mit Follikelzellen abwechselnd gleichmäßig in der Gonade verteilt. Im weiblichen Geschlecht liegen um die großen eiertypigen Zellen Follikelzellen in größerer Zahl als auf früheren Stadien. Die übrigen Stromazellen haben sich verringert.

Die Gonaden sind mit der Coelomwand durch ein schmales Aufhängeband in Zusammenhang.

In diesem Altersstadium gelingt es auch schon leicht, die Gonaden aus den Fischchen herauszupräparieren. Die Fischchen sind in diesem Alter 30 mm lang, die Gonaden etwa 6 mm. Die Unterschiede in der Differenzierung sind natürlich nur auf Schnitten zu erkennen.

In einem Alter von 135 Tagen nach der Befruchtung ist nur wenig Unterschied von dem vorigen Stadium vorhanden. Deutlich differenzierte Fische kommen zwar nicht selten vor, aber auch solche mit Gonaden unentschiedener Tendenz sind noch zahlreich. Auch habe ich in diesem Alter Fische gefunden, bei denen in der Gonade der Länge nach Stücke mit ausgesprochen weiblichem Charakter mit solchen von rein männlichem Charakter mehrmals abwechselten, so daß es nicht abzusehen war, welches Geschlecht hier schließlich die Oberhand gewinnen würde.

Das nächste untersuchte Stadium waren Fische im Alter von 145 Tagen nach der Befruchtung. Die Gonaden hatten natürlich an Größe zugenommen, was ich wohl nicht jedesmal zu bemerken brauche. Die Differenzierung ist schon allenthalben soweit fortgeschritten, daß über die geschlechtliche Richtung der Gonaden der einzelnen Fischchen kein Zweifel mehr bestehen kann. In weiblichen Gonaden liegen die großen

eiartigen Keimzellen dicht gedrängt in vermehrter Anzahl, etwa 20 Stück gegen 5 bis 10 auf dem vorhergehenden Stadium. Zwischen ihnen liegen flache Follikelzellen, dunkel gefärbt. In den größeren Lücken aber liegen in Gruppen von 3 bis 9 Stück Keimzellen von weit geringerer Größe als die großen eiähnlichen Zellen (Abb. 7). Sie zeigen keine Spur von Degeneration und man kann daher wohl nicht behaupten, daß es sich hier um Keimzellen männlicher Tendenz handelt, die von den wachsenden weiblichen Keimzellen schließlich verdrängt werden. Sie gleichen vielmehr so sehr den Bildern, die Böhi als Beweis seiner Behauptung bringt, daß »Coelomzellen« sich innerhalb der Gonaden in Geschlechtszellen umwandeln, daß es oft schwer fällt, etwas dagegen vorzubringen. Zumal ich in diesem Alter nie Teilungsstadien von Keimzellen beobachten konnte. Freilich unterschieden sich diese kleinen Keimzellen in nichts von den früher von mir gezeichneten in Cysten angeordneten Keimzellen von Gonaden mit männlicher Tendenz, als eben dadurch, daß sich bei ihnen keinerlei Teilungsstadien nachweisen lassen, und auch von ihnen keine Cysten gebildet werden. Und so ist es doch am wahrscheinlichsten, daß es sich hier um Keimzellen von noch unentschiedener Tendenz handelt, deren Teilungsstadien mir entgangen sind, und die durch Heranwachsen zu weiblichen Eizellen werden. Denn anders läßt sich die vermehrte Anzahl der großen eiartigen Zellen in diesem Altersstadium nicht erklären, da es sicher ist, daß diese großen Zellen sich keinesfalls mehr durch Teilung vermehren. Auch habe ich auf späteren Schnitten (248 Tage alten Weibchen) alle Übergänge zwischen den noch nicht in das Wachstumsstadium eingetretenen Keimzellen unentschiedener Tendenz und den großen eiähnlichen Zellen gefunden.

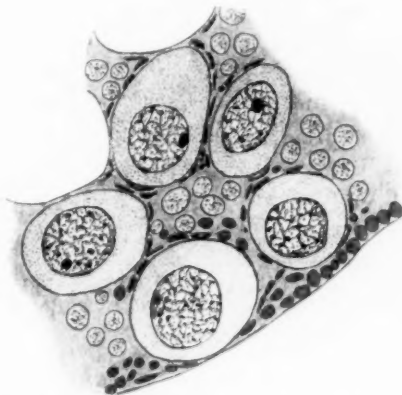


Abb. 7. Querschnitt durch die linke Gonade einer weiblichen Regenbogenforelle, 145 Tage nach der Befruchtung. Abbildung eines Teilstückes. Große eiähnliche Zellen von Follikelzellen umgeben, dazwischen Keimzellen noch labil, die durch Heranwachsen zu Eizellen werden können. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 7, Zeiss-Kompens.-Okular 6, Tubuslänge 160 mm, Vergrößerung etwa 23fach.

Für das männliche Geschlecht ist in diesem Alter wenig Neues zu sagen. Die Cysten sind verschwunden, die Geschlechtszellen nicht mehr so gleichmäßig verteilt, ihre Zahl ist natürlich gewachsen. Es macht sich oft eine mehr reihen- oder gruppenweise Anordnung bemerk-

bar (Hodenfollikel *Jungersens*?) Die Reihen sind durch Zwischenräume getrennt. Am Rande der Gruppen liegen vereinzelt Follikelzellen. Ihre Zahl ist sehr gering. Das die Gonade versorgende Blutgefäß ist groß und deutlich. In Kultur V traf ich neben in der oben beschriebenen Weise normal entwickelten Tieren einen 147 Tage alten Fisch, dessen rechte Gonade auf den Querschnittsbildern nur 2 große eiförmige Zellen aufwies, davon eine in Degeneration. Alle anderen Geschlechtszellen waren nicht in das Wachstumsstadium eingetreten und zeigte so diese Gonade männliche Tendenz, während die linke noch typisch weiblichen Charakter trug. Das Tier schien also in Umwandlung zum Männchen begriffen, nachdem es sich vorher in weiblicher Richtung entwickelt hatte. Auf weiter kaudal gelegenen Schnitten zeigte die rechte Gonade rein männlichen Charakter. Die Umwandlung geht also in kaudokranieler Richtung vor sich. Bei einem zweiten Fisch (151 Tage nach der Befruchtung) war es ebenso, nur hatten die beiden Gonaden ihre Rollen vertauscht. Überhaupt war auf diesem Stadium in den Überreifekulturen der Differenzierungszustand noch bedeutend labiler, als in den weniger überreifen gleichen Alters. Eine Beschleunigung der Differenzierung eines Geschlechtes durch die Überreife gegenüber der normalreifen Kultur, wie sie von R. Hertwig (1920) bei Fröschen gefunden wurde, war somit nicht festzustellen, auch auf späteren Stadien nicht.

Mit zunehmendem Alter von 150—250 Tagen nach der Befruchtung nehmen die Gonaden an Größe zu. Das Aufhängeband schrumpft erheblich zusammen. — Alle früheren Autoren gaben die Aufhängebänder als stets vorhanden an. Ich habe auf Schnitten älterer Stadien dieselben nicht mehr finden können, doch mag das an den Präparaten gelegen haben. Dagegen sind die Gonaden am kranialen und am kaudalen Ende durch einen deutlichen Gewebestrang mit den Teilen der Peritonealscheidewand verbunden, welche die Enden der Leibeshöhle begrenzen. Ich vermeide es lieber den kaudalen Gewebestrang kurzweg als Geschlechtsausführgang bzw. dessen Anlage zu bezeichnen. Inwieweit diese Bezeichnung berechtigt ist, müßten erst eingehende Untersuchungen über diesen Punkt erklären. Was sonst die Geschlechtsausführgänge betrifft, so kann ich für das von mir untersuchte Material hier nur bestätigen, was schon *Jungersen* (1889) festgestellt hat, nämlich daß ein Zusammenhang zwischen Harnapparat und Ausführgängen bei der Entstehung letzterer nicht besteht, dieselben vielmehr als einfache Verlängerung der Keimdrüse angelegt werden.

Die Geschlechtsdifferenzierung wird nun immer deutlicher, die Zahl der Geschlechtszellen nimmt im männlichen, wie im weiblichen Geschlecht zu. Im ersteren sind die Geschlechtszellen nicht mehr von so blasser Farbe wie früher. Sie färben sich stark. Die Größe ist

cher geringer als auf früheren Stadien, dafür die Zahl stark vermehrt. Die Zwischenräume zwischen den Reihen und Gruppen der Geschlechtszellen sind deutlicher geworden und anastomosieren.

Im weiblichen Geschlecht sind immer noch Keimzellen zu sehen, die noch nicht ins Wachstumsstadium eingetreten sind.

In der Überreifekultur IV traf ich einen 224 Tage alten Fisch mit verkümmerten Gonaden. Außerdem zeigten auch die Überreifekulturen nichts Besonderes.

b) Umbildungen.

Mit 250 Tagen nach der Befruchtung zeigte es sich, daß man auch makroskopisch die Gonaden schon auf ihr Geschlecht hin unterscheiden konnte. Die Fischchen waren in diesem Alter ungefähr 4,5–5 cm lang. Freilich kamen auch noch einzelne vor, die erheblich kleiner waren. Ich trug mich also schon mit dem Gedanken, meine Kulturen abzutöten und das Geschlecht festzustellen. Die wenigen noch zu kleinen Fische hätte ich ja ganz einbetten und schneiden und so auf ihr Geschlecht prüfen können. Vorsichtshalber aber bettete ich vorher noch 15 Fische der Kultur V ganz ein und untersuchte sie auf Schnitten.

Nun aber kam es ganz anders als ich erwartet hatte.

Ich hatte die Tiere wie alle vorhergehenden, bei welchen ich stets einwandfrei die Gonaden hatte feststellen können, etwas vor dem kaudalen Ende der Brustflosse durchschnitten, das abgetrennte Kopfstück

aufgehoben und das Rumpfstück auf Schnitten in kaudaler Richtung verfolgt (vgl. hierzu die Abb. 8). Wie erstaunt war ich aber in dieser Körperregion nur bei den wenigsten Fischen Gonaden feststellen zu können, während bei den anderen nur kümmerliche Reste oder bloß der Aufhängestrang vorhanden waren. Ich bettete hierauf auch noch

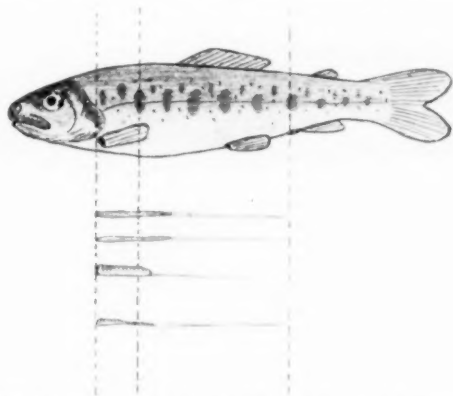


Abb. 8. Schema — 1,3mal natürliche Größe — einer Regenbogenforelle 250 Tage nach der Befruchtung; zur Erläuterung des Verhältnisses zwischen Fischlänge und Gonadenlänge. Oben 2 männliche Gonaden, normal (17% der Fischlänge), darunter eine normale weibliche Gonade, unten eine Gonade auf dem Umbildungsstadium aus Kultur V, wie es im Text beschrieben ist, rekonstruiert nach den mikroskopischen Präparaten.

Die linke punktierte Linie zeigt das kraniale, die rechte das kaudale Ende der Gonade, bzw. von deren Aufhängestrang an. Die mittlere punktierte Linie zeigt die Stelle an, an welcher für gewöhnlich zu schneiden begonnen wurde. Links von ihr das im Text als solches bezeichnete »Kopfstück« des Fisches, rechts von ihr das »Rumpfstück«.

die Kopfstücke ein und verfolgte diese auf Schnitten in kranialer Richtung. Das Ergebnis war folgendes:

5 Fische erwiesen sich als typische Männchen, auch schon in den Rumpfstücken erkennbar. Jedoch waren die Gonaden im Vergleich zu denen von Fischen der Normalkultur gleichen Alters von kümmerlicherem Aussehen und ihrer ganzen Länge nach viel kleiner im Durchmesser. Gegen die Enden zu nahmen sie natürlich immer mehr an Durchmesser ab. Auch war die Länge gering.

Ein weiterer Fisch männlichen Charakters hatte so kurze, kümmerliche Gonaden, daß diese nur im Kopfteil zu unterscheiden waren. Im Rumpfteil waren nur die Gewebsstränge zu sehen, welche die Verbindung mit der Peritonealscheidewand bildeten. Der 7. Fisch war ein typisches Weibchen.

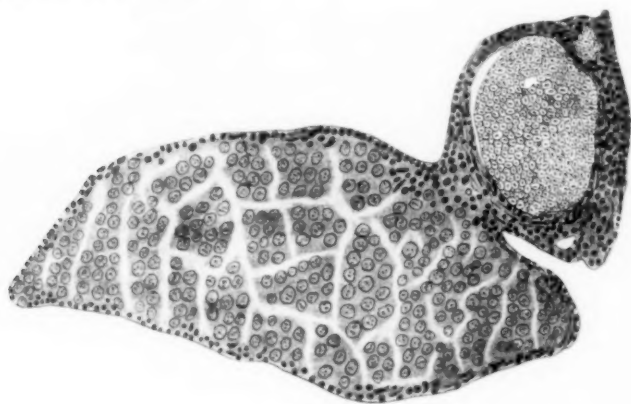


Abb. 9. Querschnitt durch die linke Gonade einer männlichen Regenbogenforelle der Normalkultur, 250 Tage nach der Befruchtung mit Blutgefäß. Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 7, Leitz-Okular 1, Tubuslänge 152 mm. Vergrößerung etwa 120fach.

Der 8. Fisch war ebenfalls ein Weibchen, doch waren die Gonaden am kranialen Ende des Rumpfstückes kurz vor ihrem Ende getroffen, ihre Länge also gering, ebenso ihr Durchmesser.

Die 7 übrigen Fische ließen in den Rumpfstücken ein Geschlecht unmöglich unterscheiden. Zumeist waren hier nur die Aufhängestränge oder kümmerliche Reste von Gonaden zu erkennen. Letztere zeigten stets männliche Strukturen. In den Kopfstücken folgten auf Schnitte, die meist noch männliche Strukturen aufwiesen, solche, die in der männlichen Struktur einige Eizellen in Degeneration zeigten. Schließlich ging dann am kranialen Ende die Gonade in ein Ovar über. Diese Ovarien waren, wie schon aus dem Obengesagten hervorgeht, nur von sehr geringer Länge. Auch der Durchmesser war viel kleiner als bei normalen Ovarien. Meist waren die Gonaden ungleich lang, so daß

oft auf den Schnitten die rechte Gonade männliche, die linke weibliche Struktur aufwies, oder umgekehrt oder es war an Stelle der einen Gonade überhaupt nur ein Gewebsstrang zu erkennen.

Es wäre nun nichts so Auffälliges, daß am Ende von weiblichen Gonaden männliche Strukturen zu sehen sind; denn schließlich befinden sich in jeder weiblichen Gonade Keimzellen, die noch nicht in das



Abb. 10. Querschnitt durch die rechte Gonade einer weiblichen Regenbogenforelle der Normalkultur, 250 Tage nach der Befruchtung. Das zugehörige Blutgefäß lag hier infolge Schrumpfung etwas abseits. Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 7, Leitz-Okular I, Tubuslänge 152 mm, Vergrößerung etwa 120fach.

Wachstumsstadium eingetreten sind und zwar natürlich besonders zahlreich an den Enden. Das Auffällige hier war die geringe Länge und die kümmerliche Gestalt überhaupt, welche den erwähnten Ovarien eigen war. Auch war die Zone, die männlichen Charakter trug, verhältnismäßig viel ausgedehnter als bei normalen Gonaden, sowie öfters degenerierende Eizellen zu sehen, so daß man sich dem Eindruck nicht verschließen konnte, es handle sich hier um Übergangsstadien vom Weibchen zum Männchen; indem die Umwandlung hauptsächlich in

kaudo-kranialer Richtung vorsich geht, manchmal auch an beiden Enden einsetzt. Gestützt wird diese Ansicht noch dadurch, daß auf den vorhergehenden Altersstadien auch bei Überreifekulturen nur ganz selten abnormale Gonaden vorkamen und die eben beschriebenen Bilder nicht zu finden waren, weiterhin durch die Beobachtung, daß das Geschlechtsverhältnis dieser jungen Stadien annähernd 50:50 war, während es in der Zeit nach dem Auftreten der Zwischenformen eine merkliche Verschiebung zugunsten des männlichen Geschlechtes erfahren hatte. Man wende nicht ein, es könnten mittlererweile mehr Weibchen eingegangen sein! Das abgestorbene Material wurde vor dem



Abb. 11. Querschnitt durch die rechte Gonade einer Regenbogenforelle der Kultur V, 250 Tage nach der Befruchtung Rumpfstück. Männliche Struktur, viele Stromazellen. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 7, Leitz-Okular 1. Tubuslänge 152 mm, also bei gleicher Vergrößerung wie Abb. 9 und 10. (120fach.)



Abb. 12. Dieselbe Gonade wie in Abb. 11 bei gleicher Vergrößerung. Querschnitt vom Kopfstück mit weiblichen Keimzellen in Degeneration. Beschreibung siehe Text!

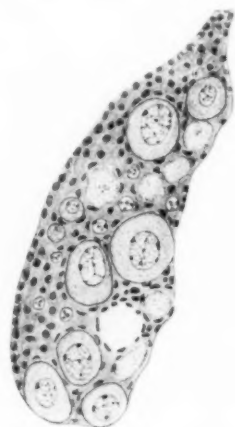


Abb. 13. Dieselbe Gonade wie in Abb. 11 und 12 bei gleicher Vergrößerung (120 fach). Querschnitt vom Kopfstück bedeutend weiter kranial. Struktur überwiegend weiblich. Die Gonade ist hier an der Stelle ihres größten Durchmessers abgebildet. Vgl. das Größenverhältnis zu Abb. 10. Näheres im Text!

Auftreten der Zwischenformen, also vor dem 250. Tag nach der Befruchtung in ausreichenden Stichproben untersucht und fand sich hier ein annähernd gleiches Geschlechtsverhältnis. Nach dem 250. Tag nach der Befruchtung, also nach dem Auftreten der Zwischenformen wurde das wenige absterbende Material vollständig auf sein Geschlecht geprüft und ergab sich hier schon ein Überwiegen der Männchen auch bei den abgestorbenen.

Der Vollständigkeit halber will ich hier aber auch noch eine kurz skizzierte Beschreibung jedes einzelnen der 7 wichtigen Fische folgen lassen. Besser als alle Worte jedoch erläutert die eben beschriebenen Umbildungsformen ein Vergleich meiner Abbildungen der Zwischen-

formen mit Gonaden von normalen Fischen gleichen Alters (Abb. 9 und 10), die ich im Anschluß an die nachfolgende Beschreibung angefertigt habe. Wobei hier betont sei, daß die Abb. 9—15 sämtlich gleiche Vergrößerung besitzen. Schon die Größenunterschiede allein sind von Bedeutung. Alle die verschiedenen Bilder der beschriebenen Zwischenformen zu bringen war freilich unmöglich; denn jeder Fisch, ja nahezu jeder Schnitt gibt da wieder ein anderes Bild. Ich habe deshalb nur wenige der markantesten Stadien im Bilde festgehalten.

Bei Fisch Nr. 9 ist auf den kaudal gelegenen Schnitten des Rumpfstückes nur eine Andeutung der rechten Gonade zu sehen und zwar sind darin zunächst nur Stromazellen zu erkennen. Etwa 15 Schnitte



Abb. 14. Querschnitt durch die rechte Gonade einer Regenbogenforelle der Kultur V, 20 Tage nach der Befruchtung. Schnitt vom Rumpfstück. Oben Peritonealepithel aus der Umgebung der Schwimmblase. Übrige Beschreibung siehe Text! Gezeichnet bei gleicher Vergrößerung wie Abb. 9 und 10. [120fach.]



Abb. 15. Dieselbe Gonade wie in Abb. 14, bei gleicher Vergrößerung (120fache). Schnitt vom Rumpfstück weiter kranial gelegen. Beschreibung siehe Text!

weiter kranial sind auch Keimzellen vorhanden. Keine davon ist ins Wachstumsstadium eingetreten, wodurch die Gonade ein männliches Gepräge bekommt (Abb. 11). Im Kopfstück treten zunächst einige Eizellen auf, davon ein Teil in Degeneration (Abb. 12). Auch die linke Gonade ist nun angedeutet, enthält aber zunächst nur Stromazellen. Die rechte Gonade nimmt dann weiter kranial bald rein weiblichen Charakter an (Abb. 13), während die linke ganz verkümmert bleibt. Sie zeigt fast ausschließlich Stromazellen, wie sie sonst die Aufhängestränge charakterisieren, daneben wenige Keimzellen männlichen Charakters hier und da eine degenerierte Eizelle eingesprengt oder an deren Stelle eine Lücke im Gewebe. Der Durchmesser auch an der stärksten Stelle ist minimal. Auch die rechte Gonade ist an ihrer stärksten Stelle von recht kümmerlichem Durchmesser. Die Länge ist ebenfalls weit geringer als bei normalen Gonaden.

Bei Fisch Nr. 10 weist im Rumpfstück auch auf stark kaudal gelegenen Stücken die linke Gonade weibliche Struktur auf und behält dieselbe, an Durchmesser allmählich zunehmend, ihrer ganzen Länge nach bei. Der Durchmesser erreicht ungefähr die Ausdehnung einer normalen weiblichen Gonade. Die rechte Gonade besteht im Rumpfstück aus drei Teilen, die hauptsächlich Stromazellen und daneben wenige Keimzellen männlichen Aussehens aufweisen. In dem ventralen der drei Teile nehmen die Keimzellen männlicher Tendenz zu (Abb. 14), je weiter kranial die Schnitte liegen. Ein vierter Teil kommt dann noch hinzu. Noch weiter kranial treten im ventralen Teil degenerierende Eizellen auf, während in den beiden am meisten dorsal gelegenen Teilen immer mehr Keimzellen männlichen Typs erscheinen (Abb. 15). Weiter kranial und besonders im Kopfteil nimmt dann der ventrale Teil immer mehr den Charakter einer weiblichen Gonade an und erreicht auch einen Durchmesser, der dem einer normalen nur wenig nachsteht. Die Länge des Teiles mit weiblicher Struktur ist allerdings wesentlich geringer als die einer normalen weiblichen Gonade. Die übrigen drei Teile nehmen im Kopfstück an Ausdehnung allmählich ab, je weiter kranial die Schnitte liegen. Zuerst verschwindet der vierte Teil, dann ein gutes Stück weiter kranial die anderen beiden Teile, indem ihr Durchmesser immer geringer wird und sie schließlich nur noch Stromazellen enthaltend in das Peritonealepithel auslaufen, das die Schwimmblase umgibt.

Bei Fisch Nr. 11 ist auf den kaudal gelegenen Schnitten des Rumpfstückes nur die rechte Gonade zu sehen. Sie zeigt wenige degenerierte Eizellen, ihr Durchmesser ist etwas geringer als der der Gonade in Abb. 11. Weiter kranial nimmt sie bald weibliche Struktur an, bleibt aber im Durchmesser ihrer ganzen Länge nach bedeutend hinter dem einer normalen Gonade zurück.

Die linke Gonade ist erst im Kopfstück zu bemerken, sie ist zunächst von sehr geringem Durchmesser und enthält neben Stromazellen wenige Keimzellen männlicher Struktur. Weiter kranial nimmt der Durchmesser ziemlich zu und werden die Keimzellen männlicher Struktur sehr zahlreich, so daß die Gonade einen rein männlichen Typus erhält und zwar in einem ansehnlichen Stück ihrer Länge. Erst sehr weit kranial sind vereinzelte Eizellen eingesprengt, die dann rasch an Zahl zunehmen, so daß die Gonade in ihrem letzten, allerdings kurzen, kranial gelegenen Stück doch noch weiblichen Charakter erhält. Der Durchmesser steht an der stärksten Stelle dem einer normalen Gonade wenig nach.

Bei Fisch Nr. 12 ist auf kaudal gelegenen Schnitten des Rumpfstückes zunächst nur der kaudale Gewebsstrang der linken Gonade zu sehen. Erst viel weiter kranial im Kopfstück treten die ersten Keimzellen auf. Sie tragen männliches Gepräge und nehmen weiter kranial mit dem Umfang der Gonade an Zahl zu; so daß die Gonade das typische Aussehen eines, wenn auch kümmerlichen männlichen Geschlechtsorganes erhält. Noch weiter kranial treten dann neben zahlreichen Keimzellen männlichen Typs einige Eizellen in Degeneration auf. Hierauf macht dann die Gonade eine Strecke weit den Eindruck unentschiedener Geschlechtsrichtung, da neben zahlreichen Keimzellen männlichen Typs auch einige vollkommen ausgebildete Eizellen vorhanden sind. Noch weiter kranial werden die Eizellen noch zahlreicher, doch wird die Tendenz in dieser Gonade überhaupt nicht ganz klar weiblich. Sie sieht stets bald mehr, bald weniger wie eine männliche Gonade aus, in die weibliche Eizellen bald mehr, bald minder zahlreich eingesprengt sind. Noch weiter kranial endlich verschwinden die weiblichen Keimzellen wieder ganz und die Gonade nimmt noch ein gutes Stück weit bis an ihr kraniales Ende rein männliche Struktur an. Der Durchmesser der Gonade steht auch an ihrer stärksten Stelle dem einer normalen *männlichen* Gonade noch nach, um so mehr natürlich dem einer normalen weiblichen.

Von der rechten Gonade sind erst auf Schnitten des Kopfstückes Spuren zu finden. Erst nur solche des Gewebsstranges. Weiter kranial treten Keimzellen männlicher Struktur auf. Es folgen rein männlicher Typ, Bilder mit degenerierenden Eizellen, Eizellen unter zahlreichen Zellen männlicher Struktur eingesprengt, schließlich überwiegend weiblicher Typ bis an Ende. Der Durchmesser ist weit geringer als normal. Daß die Länge aller bisher in diesem Abschnitt beschriebenen Gonaden stets geringer als normal ist, brauche ich wohl nicht jedesmal erwähnen. Dies geht ja schon aus den Angaben über den Beginn ihres kaudalen Endes hervor.

Bei Fisch Nr. 13 sind auf Schnitten des Rumpfstückes und auch noch eines Teiles des Kopfstückes nur Spuren der Gewebestränge

beider Gonaden zu sehen. Im Kopfteil nimmt dann die linke Gonade rasch weibliche Struktur an, während die rechte eine Strecke weit unentschiedene Tendenz zeigt, um schließlich auch zum weiblichen Typ überzugehen. Der Durchmesser erreicht nur in einem sehr kurzen, ganz am kranialen Endgelegenen Teil bei beiden Gonaden annähernd normale Dimensionen.

Bei Fisch Nr. 14 sind im Rumpfstück nur Spuren der Gewebestränge beider Gonaden zu sehen. Im Kopfstück folgen dann Bilder mit Keimzellen männlicher Struktur neben zahlreichen Stromazellen, dann solche mit ausgesprochen männlichem Typ, hierauf Bilder mit Eizellen in Degeneration, Bilder unentschiedener Tendenz und weiblicher Typ aufeinander. Der Durchmesser wird schließlich ansehnlich, erreicht aber nicht ganz die Ausdehnung wie bei normalen Gonaden. Die Länge des Teiles mit rein weiblichem Typ bleibt bei beiden Gonaden weit hinter der normalen zurück.

Bei Fisch Nr. 15 sind ebenfalls im Rumpfstück nur die Gewebestränge zu bemerken. Im Kopfstück treten bei der linken Gonade bald einige Keimzellen männlicher Struktur auf, weiter kranial folgen Bilder mit Eizellen in Degeneration und zwar eine größere Strecke weit, dann kommen Bilder mit unentschiedener Tendenz, später, schon ziemlich weit kranial, rein weibliche Strukturen. Ähnlich ist es bei der rechten Gonade, nur daß die entsprechenden Bilder sämtlich viel weiter kranial beginnen als bei der linken Gonade. Der Durchmesser ist nur in einem kurzen Stück des kranialen Endes bei beiden Gonaden einigermaßen ansehnlich, nimmt aber dann wieder ab. Die Längenausdehnung des Stückes mit rein weiblicher Tendenz ist bei der linken Gonade schon sehr gering, noch geringer bei der rechten.

Als wichtig sei hier noch erwähnt, daß auf späteren Stadien Zustände, wie die oben beschriebenen, nicht mehr festzustellen waren.

Ich will hier betonen, daß ich ursprünglich dem Gedanken, hier tatsächlich gerade das Stadium der Umbildung von Weibchen zu Männchen festgehalten zu haben, äußerst skeptisch gegenüber stand. Ich glaubte zuerst die Fische vielleicht zu weit rückwärts geschnitten zu haben und dachte daran, daß vielleicht bei jedem Fisch am Ende der Gonade solch zweifelhafte Bilder zu finden seien. Aber ein Vergleich mit normalen Fischen widerlegte diese Zweifel. Ich habe die fraglichen Fische auf das Genaueste Schnitt für Schnitt bis weit in den Kopf hinein verfolgt und mußte mich schließlich überzeugen lassen; denn alle die Bilder und Zustände, die ich vordem als Entwicklungsstadien *verschiedener Altersstufen* beschrieben hatte (vgl. auch Abb. 3 bis 7), waren bei diesen Fischen fast stets vollzählig in *ein und derselben Gonade* zu finden, keine der fraglichen Gonaden hatte normale Länge und fast immer war der Durchmesser nur kümmerlich. Man vergleiche nur die vorhergehende Beschreibung!

Es ginge hieraus hervor, daß die aus überreifen Eiern hervorgegangenen Fische sich zunächst in bezug auf Geschlechtsbildung ziemlich normal entwickeln bis in einem gewissen Alter eine Reihe von Weibchen — je überreifer die Kultur, desto mehr — aus bestimmten Ursachen die Entwicklung der Gonaden in weiblicher Richtung aufgibt und eine Umbildung zum Männchen Platz greift. Sehr verwunderlich ist dieser Vorgang allerdings nicht; denn jede Fischgonade ist ein äußerst labiles Ding. In einer solchen männlicher Tendenz z. B. brauchen nur mehrere Keimzellen aufhören sich zu vermehren und anfangen zu wachsen und die Möglichkeit zur Entstehung eines Ovars ist gegeben. In einer Gonade weiblicher Tendenz, und dies trifft im vorliegenden Falle zu, brauchen nur diejenigen Keimzellen, die noch nicht ins Wachstumsstadium eingetreten sind, dies zu unterlassen und sich an Stelle dessen vermehren. Außerdem treten die bereits vorhandenen, zu Eizellen herangewachsenen Keimzellen in Degeneration ein und die Entstehung einer männlichen Gonade ist gesichert. Die Ursachen allerdings, die plötzlich in einem gewissen Alter hier die Fischechen der Überreifekultur veranlassen mit der Entwicklung in der einen Richtung aufzuhören und in der anderen zu beginnen, können wir unter dem Mikroskop nicht sehen und werden dazu auch kaum je imstande sein. Wir können sie vielleicht auf dem Wege chemischer Untersuchungen ermitteln, vielleicht aber auch nur theoretisch erschließen; denn mit Deutungen wie der, daß die überreifen Eier infolge der Resorption Ernährungsstörungen erleiden, die sich dann im Laufe der Entwicklung geltend machen oder daß durch die Überreife bedingte Entwicklungshemmungen vor allem auf die Gonaden wirken, ist die Ursache zwar weiter hinausgeschoben aber nicht erklärt. Immerhin aber werden obige Beobachtungen vielleicht ein Licht auf das gelegentliche Auftreten von Ovariotestes bei einer Reihe anderer Tiere werfen wie es z. B. von *Krediet* (1921) für die Ziege beschrieben wurde und dessen Ursache bisher ungeklärt war. Warum sollte es sich hier nicht um Individuen handeln, die aus spätbefruchteten Eiern hervorgegangen sind?

Leider hinderte mich die Knappheit an Material bei meinen Überreifekulturen noch mehr Fische in diesem Alter abzutöten und zu untersuchen.

Betonen möchte ich hier noch, daß ich zu diesen Resultaten noch zu einer Zeit gekommen bin, zu welcher mir die Ergebnisse der Untersuchungen *R. Hertwigs* (1920) noch nicht bekannt waren, die für Frösche ganz ähnliche Vorgänge ans Licht gebracht haben. Um so mehr freut es mich, diese Ergebnisse hier bestätigt zu finden.

Obwohl nun vom 260. Tage nach der Befruchtung ab die Differenzierung des Geschlechts in allen Kulturen so deutlich wurde, daß kein

Zweifel mehr bestehen konnte, wollte ich doch um sicher zu gehen, daß nicht vielleicht noch Umbildungen stattfinden könnten, die Kulturen noch nicht abtöten und erhielt sie sämtlich bis zum 337. Tage nach der Befruchtung am Leben. Etwas Besonderes habe ich für die Periode vom 260. Tage nach der Befruchtung bis zum Tage des Abtötens nicht mehr bemerken können, außer daß die Geschlechtsdrüsen gelegentlich von Gewebsmassen begleitet waren, die den Eindruck eines weitmaschigen Netzes machten und sich auch weiter ventral in Zwischenräume zwischen Darm und Leibeshöhlenwandung erstreckten. Sie erinnerten an die Beschreibung *Jungersens* (1889) bei *Gobio fluvialis* und *Vogts* (1882) bei *Phoxinus varius*. Sonst wies nur noch ein 263 Tage alter Fisch der K IV ähnliche Bilder auf wie die eben beschriebenen sieben Fische der K V, nur nicht in so ausgeprägter Form.

Im übrigen nahmen die Gonaden natürlich an Durchmesser und Länge immer mehr zu. Es gilt dies für alle Kulturen.

Im männlichen Geschlecht wurden die Keimzellen immer zahlreicher und im Verhältnis zur Größe der Gonade kleiner. Hodenkanälchen werden hier allgemein deutlich, doch konnte ich ähnliche Bilder, wie sie *Brock* (1881) und *Jungersen* (1889) von ihnen bringt und wie sie auch bei *Felix* (1906) in seiner Abb. 412b wiederholt werden, nur auf Längsschnitten durch die Gonade finden. Auf Querschnitten machte es den Eindruck, als ob die schon auf früheren Stadien erwähnten Zwischenräume zwischen den einzelnen Reihen und Gruppen der Geschlechtszellen sich zu einem anastomosierenden System von senkrecht zur Längsrichtung der Gonade verlaufenden Kanälen ausbilden würden, die nach der medialen Seite der Gonade zu konvergieren und sich in dieser Richtung erweitern. Aus dieser medial gelegenen Erweiterung dürfte dann später der Samenleiter entstehen. Die Geschlechtszellen kann man jetzt wohl schon als Spermatogonien ansprechen. Sie haben etwa vom 300. Tage nach der Befruchtung ab durchaus nicht mehr die schöne regelmäßige runde Form ihrer Kerne aufzuweisen, diese ist meist länglich oval geworden. Die Größe der Kerne ist kaum die Hälfte von derjenigen im Alter von 250 Tagen, das Protoplasma ist stark geschwunden, die blassere Kernfarbe von früher hat einer satten Färbung Platz gemacht. Endlich liegen diese Geschlechtszellen in Gruppen eng zusammengedrängt. Follikelzellen sind spärlich.

Im weiblichen Geschlecht nehmen die Eizellen immer noch an Größe zu, auch ihre Zahl wuchs noch beträchtlich. Geschlechtszellen, die noch nicht ins Wachstumsstadium eingetreten waren, fanden sich auch noch vor. Allerdings verhältnismäßig spärlich. Ich fand dieselben noch in einem Alter von 337 Tagen nach der Befruchtung und werden sich diese Zellen wahrscheinlich auch in allen noch folgenden

Altersstadien finden, solange das betreffende Weibchen überhaupt zeugungsfähig ist. Die weiblichen Gonaden zeigten auf Längsschnitten stets (Abb. 16) sowie auch manchmal auf Querschnitten (Abb. 17) eine deutlich gelappte Struktur. Diese letzteren bestehen demnach in diesem Alter aus einer Achse, um die im Halbkreis krausen- oder büstenartig zahlreiche einzelstehende Zotten oder Lappen angeordnet sind, in welchen sich jeweils mehrere Eizellen befinden, die dann bei der Reife wahrscheinlich einfach aus diesen Zotten herausfallen. Daß Brock (1878), Jungersen (1889) und Felix (1906) hier stets nur von Faltungen der Ovarien sprechen, nie aber davon, daß diese Falten auch der Länge nach stetig unterbrochen sind, sich also in einzelne Lappen auflösen, rührt wahrscheinlich daher, daß die Ovarien dieser Stadien



Abb. 16. Längsschnitt durch die Gonade einer normalen weiblichen Regenbogenforelle, 310 Tage nach der Befruchtung. Beschreibung siehe Text! Gezeichnet auf Objekttischhöhe mit Leitz-Mikroskop, Leitz-Objektiv 3, Leitz-Okular 1, Tubuslänge 147 mm, Vergrößerung etwa 25fach.



Abb. 17. Querschnitt durch dieselbe Gonade wie in Abb. 16 bei gleicher Vergrößerung (25fach).

stets nur auf Quer-, nicht aber auf Längsschnitten untersucht wurden.

Manche Theorie über Anlegung der Ausführgänge in Form von Längsfalten usw. dürfte hiermit ins Wanken geraten. Felix bemerkt allerdings, daß die Faltungen an verschiedenen Orten gleichzeitig beginnen können. Es müßte also sein, daß auf noch späteren Stadien, als bis zu welchen ich die Entwicklung verfolgte, eine kraniokaudale Verschmelzung der einzelnen Lappen erfolgen würde.

2. Makroskopische Untersuchungen.

Jeweils am 337. Tage nach der Befruchtung wurde das noch vorhandene Material der einzelnen Kulturen abgetötet und makroskopisch auf das Geschlecht geprüft. Ich war damit sicher, daß zu dieser Zeit

die Geschlechter wenigstens größtenteils endgültig differenziert und auch makroskopisch einwandfrei zu erkennen sein würden, so daß das zeitraubende Untersuchen auf Schnittpräparaten wegfallen konnte. Immerhin habe ich bei K V vorsichtshalber die gesamten Gonaden des noch vorhandenen lebenden Materials nach dessen Abtötung und makroskopischer Untersuchung auch noch auf Schnitten mikroskopisch untersucht. Und ist es hier und in K IV nicht ganz sicher, ob von den in diesen beiden Kulturen vielfach angetroffenen abnorm gebildeten weiblichen Gonaden nicht schließlich noch manche eine vollständige Degeneration der Eizellen und endliche Umbildung zu männlichen Geschlechtsdrüsen erfahren hätten.

a) Lage, Größe und Gestalt der Gonaden.

Die makroskopische Untersuchung erfordert einige Übung, da die männlichen sowohl wie die weiblichen Gonaden auf diesen jungen Stadien noch nahezu vollständig durchsichtig sind und nicht die im späteren Alter für das männliche Geschlecht so typische weiße, für das weibliche Geschlecht kennzeichnende gelbe bis rotgelbe Farbe aufweisen. In der Fixierungsflüssigkeit (*Schaudinn*) werden die Gonaden sofort weiß und opak. Doch ist es unzulässig, die ganzen Fische zu fixieren und dann die Gonaden herauszupräparieren; denn diese erleiden durch die Fixierung ziemlich bedeutende Schrumpfung, so daß es, wenn man vergleichende Messungen anstellen will, unbedingt erforderlich ist, die Gonaden aus dem frisch abgetöteten Fischchen herauszupräparieren. Man schneidet dem Fischchen den Bauch auf, steckt es auf, zwickt mit der Pinzette den Darm nahe dem After durch und entfernt Darm und Magen und sonstige Eingeweide bis auf die Schwimmblase. Über den Magen, den Darm entlang, laufen meistens zwei weißliche Bänder, die sich an manchen Stellen verbreitern, es ist das das Pankreas, das man nicht mit Gonaden verwechseln darf.

Die Gonaden selbst liegen beiderseits der Schwimmblase, dicht entlang der Niere verlaufend. Sie verbleiben bei Entfernung des Darmes und Magens in ihrer Lage und lassen sich sodann leicht einzeln entfernen. Beim Männchen sind die Gonaden von geringem Querschnitt, dagegen der Geschlechtszellen enthaltende Teil lang. Er geht schließlich in einen Gewebsstrang über, der sich zum After verfolgen läßt. Die Oberfläche der männlichen Gonaden ist glatt (Abb. 18). Innere Struktur Abb. 9.

Beim Weibchen dieser Stadien sind die Geschlechtszellen mehr kranialwärts gewandert. Der Geschlechtszellen führende Teil der Gonade ist bedeutend kürzer und dicker als beim Männchen und geht dann ebenfalls in einen zum After laufenden Gewebsstrang über. Ich habe diesen Gewebsstrang ausnahmslos bei all meinen Fischen gefunden.

Wüßte man nicht, daß die Salmoniden im weiblichen Geschlecht keine Geschlechtsausführgänge besitzen, so wäre man versucht, diesen Strang für die Anlage derselben zu halten. Die mikroskopische Untersuchung ergibt aber, daß er kein Lumen besitzt. Allerdings habe ich auch auf dieser und auf früheren Altersstufen bei männlichen Geschlechtsdrüsen jenen Teil, der keine Geschlechtszellen mehr führt, als kompakten Gewebsstrang befunden, der mit einem Ausführgang noch keine große Ähnlichkeit hatte. Rathke (1825) gibt freilich an, daß der Ausführgang im männlichen Geschlecht auch späterhin stets mit Gewebe erfüllt ist, also kein Lumen besitzt. Es ist aber auch möglich, daß bei Salmoniden der eigentliche Ausführgang im männlichen Geschlecht sich erst später ausbildet.

Betonen will ich hier, daß sowohl im männlichen wie im weiblichen Geschlecht bei allen von mir untersuchten Altersstufen die Gewebsstränge, in welche die Gonaden ausliefen, stets paarig angeordnet waren. Die Angabe von *Jungersten* (1889), daß bei allen Knochenfischen im männlichen Geschlecht sich die Geschlechtsdrüse in ein kürzeres oder längeres Vas deferens fortsetzt, das sich dann mit dem der entgegengesetzten Seite verbindet, kann ich demnach für die von mir untersuchten Altersstadien bei *Salmo irideus* bis zu einem Alter von 337 Tagen nach der Befruchtung zum mindesten nicht bestätigen. Doch ist es nicht ausgeschlossen, daß vielleicht auf noch späteren Stadien, wenn im männlichen Geschlecht die Samenleiter voll ausgebildet sind, diese dann an ihrem kaudalen Ende kurz vor ihrer Einmündung in den Harnleiter verschmelzen.

Ich möchte an dieser Stelle noch beifügen, daß ich mich beim Anblick der Gewebsstränge, in welche die sämtlichen Eierstöcke meiner Fische ausliefen, des Gedankens nicht enthalten konnte, daß es sich hier um ein Rudiment eines Ovariakanals handle, und daß der Zustand bei den erwachsenen weiblichen Salmoniden vielleicht doch nicht der primäre sei. Freilich kann man wohl mit noch größerer Wahrscheinlichkeit diesen Befund auch als einen Beweis dafür auffassen, daß auf früheren Stadien der Stammesgeschichte die Geschlechtsorgane sich durch die ganze Leibeshöhle erstreckten, die erwähnten Gewebsstränge also als deren Rudimente aufzufassen sind. Zumal ja auch heute noch, auf jungen Entwicklungsstadien, der Keimzellen führende Abschnitt der Gonade viel länger ist als später.

Die weiblichen Gonaden haben lateral eine gekerbt anmutende



Abb. 18. Totalbild der beiden Gonaden einer normalen, männlichen Regenbogenforelle, 337 Tage nach der Befruchtung. 2mal natürliche Größe, Beschreibung im Text.

Oberfläche infolge der Anordnung der sogenannten Ovariallamellen. Die mediale, bedeutend schmalere, Seite ist glatt. Einen Einblick in den inneren Aufbau gewähren Abb. 16 und 17, sowie 10. Ein Bild des Äußeren gibt Abb. 19. Die rechte Gonade ist im allgemeinen kürzer als die linke. Über Größenverhältnisse und Gestalt der Gonaden im männlichen und weiblichen Geschlecht, die in allen Kulturen ziemlich stark variierten, siehe Abb. 8 und 18–22 und Tabelle VI, S. 189. Es sei hier noch bemerkt, daß zwischen Gonadenlänge und Fischlänge wohl meistens, doch keinesfalls immer, Beziehungen bestanden. Es kamen sehr große Fische mit sehr kleinen Gonaden und ebenso das Umgekehrte recht oft vor.

Diese morphologischen Angaben gelten für Tiere in einem Alter von etwa 280 Tagen an. Je jünger die Stadien sind, desto länger ist

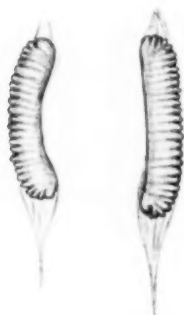


Abb. 19. Totalbild der beiden Gonaden einer weiblichen Regenbogenforelle 337 Tage nach der Befruchtung, normale Form, 2mal natürliche Größe, Beschreibung im Text.



Abb. 20. Totalbild zweier abnorm gelappter Gonaden einer weiblichen Regenbogenforelle der Kultur V, 337 Tage nach der Befruchtung, 2mal natürliche Größe, Beschreibung im Text!

noch der Geschlechtszellen führende Teil der Gonade im Verhältnis zur Fischlänge, und zwar bei beiden Geschlechtern, so daß unter 250 Tagen es schon sehr unsicher wird, morphologisch in toto das Geschlecht mit Sicherheit anzugeben. Eine ähnliche Angabe, daß die Gonaden auf jungen Stadien länger sind, in älteren Tieren sich dann verkürzen, finden wir für viele Fische bei verschiedenen Autoren, ferner auch z. B. für den Ochsenfrosch bei *Swingle* (1921). Genitalhöhlen, wie sie bei Amphibien beschrieben werden, sind bei den Forellen niemals zu finden.

Die Form der Gonaden war im allgemeinen normal. Doch kamen gelegentlich Abweichungen vor.

K I wies, was die Form anlangt, nichts Abnormales auf, nur war bei einem Weibchen die linke Gonade bedeutend mehr kaudal gelegen als die rechte und bei dem schon erwähnten Krüppel die Gonaden auffallend klein und auch durch ihre innere Zwitterstruktur bemerkenswert.

In K II war ein Weibchen, dessen rechte Gonade gekrümmt und gelappt war, ein anderes, dessen beide Gonaden stark verkürzt und gelappt waren (Abb. 20).

K III enthielt sechs Weibchen, bei welchen die linke Gonade spiralig gedreht und gelappt war. Bei zwei Weibchen war dasselbe bei der rechten Gonade der Fall, bei zwei Weibchen waren beide Gonaden derartig geformt. Ein Weibchen hatte die linke Gonade merklich weiter kaudal gelagert als die rechte.

In K IV waren die äußerlichen Unterschiede für beide Geschlechter häufig nicht so ganz klar, so daß in manchen Fällen mikroskopische Untersuchung auf Schnitten entscheiden mußte, obwohl im allgemeinen in dieser Kultur besonders die weiblichen Gonaden durch auffallende Dicke bis zu 2,5 mm sich auszeichneten. Die männlichen Gonaden hatten im allgemeinen ein ziemlich normales Aussehen, nur waren in der Dicke größere Schwankungen zu bemerken als in den ersten drei Kulturen. Zwei männliche Fische aber fielen besonders auf. Der eine, ein Tier mit verkrüppeltem Schwanz und Kiemendeckelverkürzung, wies zwei Gonaden auf, die morphologisch eine typisch weibliche Natur zeigten. Die rechte war auch gelappt, was ich sonst nur bei weiblichen Gonaden bemerkt habe. Mikroskopische Untersuchung auf Schnitten ergab jedoch, daß die innere Struktur der beiden Gonaden rein männlich war. Die Struktur war stark lappig, und es zeigten sich größere Hohlräume im Innern. Auch die Gonaden des zweiten Tieres, das nur eine starke Kiemendeckelverkürzung zeigte, ließen äußerlich auf ein Weibchen schließen, zeigten aber auf Schnitten männliche Struktur mit vereinzelt eingesprengten, stark degenerierten Eiern. Auch von vielen anderen männlichen wie weiblichen Fischen dieser Kultur wurden die Gonaden noch geschnitten, sowie sie äußerlich auch nur zum geringsten Zweifel Anlaß gaben. In dieser Richtung wurde aber sonst nichts Abnormales mehr gefunden.

Bei den weiblichen Fischen waren gelappte und spiralig gedrehte Gonaden wieder sehr häufig, und zwar bei sieben Fischen. Bei einem Fisch waren die Gonaden ganz verkümmert.

Auch in K V waren neben sehr deutlich differenzierten Gonaden — die weiblichen Gonaden zeichneten sich, wie in K IV, meist durch bedeutende Dicke aus — einige, die zu Zweifel Anlaß gaben. Zur Kontrolle und auch als Gewähr dafür, daß die makroskopische Beurteilung jener Gonaden der vorhergehenden Kulturen, die ich nicht auf Schnitten untersucht hatte, einwandfrei war, wurden die gesamten makroskopisch bestimmten und herauspräparierten Gonaden der K V auch noch auf Schnitten untersucht. Es fand sich, daß meine makroskopische Beurteilung in allen Fällen richtig gewesen war. In einem Fall — ein Fisch mit starker Kiemendeckelverkürzung — hatte ich ma-

makroskopisch das Geschlecht überhaupt nicht feststellen können und ihn als zweifelhaft für die mikroskopische Untersuchung besonders vermerkt. Es war dies eine Gonade mit äußerlich mehr weiblichem Charakter, die sich aber auf Schnitten als typisch männlich erwies. Weibliche Gonaden waren wiederum bei fünf Fischen gelappt, spiralig gedreht oder zerschnürt (Abb. 21). Ein Fisch hatte drei Gonaden, zwei kräftig ausgebildete weibliche und eine ganz kleine männliche (Abb. 22).



Abb. 21. Totalbild zweier abnorm gelappter, spiralig gedrehter Gonaden einer weiblichen Regenbogenforelle der Kultur V, 337 Tage nach der Befruchtung, 2mal natürliche Größe. Beschreibung im Text.

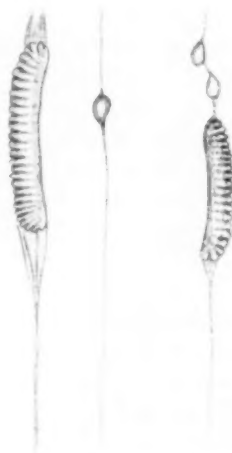


Abb. 22. Totalbild der Gonaden einer Regenbogenforelle der Kultur V, 337 Tage nach der Befruchtung. Linke und rechte Gonade stellten sich auf Schnitten als weiblich heraus, auch die beiden oberen abgeschnürten Teile der rechten Gonade. Die mittlere kleine Gonade erwies sich als männlich. 2mal natürliche Größe. Siehe auch Text!

Aus diesen makroskopischen Betrachtungen an den Gonaden der fünf Kulturen geht zunächst hervor, daß mit steigender Überreife sich abnorme Bildungen bei den Gonaden mehren, und zwar nahezu ausschließlich im weiblichen Geschlecht. Ein Zeichen, daß die Überreife von einem gewissen Grade ab nachteilig auf die Entwicklung des weiblichen Geschlechtes einwirkt. Ferner habe ich auch vielfach beobachtet, daß Fische, die infolge der Überreife sonstwie verküppelt waren, auch abnorme Gonaden aufwiesen.

Über das Größenverhältnis zwischen Fisch und Gonade im männlichen und weiblichen Geschlecht, sowie über dasselbe zwischen rechter und linker Gonade untereinander gibt nachfolgende Tabelle Aufschluß (vgl. hierzu auch die Abb. 8).

Aus dieser Tabelle ergibt sich:

Erstens, daß in den beiden letzten Überreifekulturen IV und V die Männchen im Vergleich zu den gleichalten Weibchen an Größe zu-

Tabelle VI.

| Kultur | Durchschnittliche Fischlänge cm | Männchen | | | | Gonadenlänge in % der Fischlänge | Durchschnittliche Fischlänge cm | Weibchen | | | |
|--------|------------------------------------|-------------------------|-------------|---------------------------------------|----------------------|--|------------------------------------|-------------------------|-------------|---------------------------------------|----------------------|
| | | Durchschn. Gonadenlänge | | | Gonadenlänge in % | | | Durchschn. Gonadenlänge | | | Gonadenlänge in % |
| | | rechts cm | links cm | Mittelaus rechts u. links cm | | | | rechts cm | links cm | Mittelaus rechts u. links cm | |
| I | 7,3 | 1,27 | 1,21 | 1,24 | 17 | 7,4 | 0,85 | 0,88 | 0,87 | 11,8 | |
| II | 7 | 1,14 | 1,14 | 1,14 | 16,3 | 6,9 | 0,81 | 0,87 | 0,84 | 12,3 | |
| III | 7,1 | 0,97 | 0,99 | 0,98 | 13,8 | 7,1 | 0,82 | 0,9 | 0,86 | 12,1 | |
| IV | 7 | 0,99 | 0,93 | 0,96 | 13,7 | 7,3 | 0,93 | 1,03 | 0,98 | 13,6 | |
| V | 6,7 | 0,87 | 0,84 | 0,86 | 12,9 | 7,2 | 0,87 | 0,97 | 0,92 | 12,8 | |

rückstehen; wie ja überhaupt das Wachstum der zu Männchen gewordenen Fische durch die Überreife stärker beeinträchtigt ist als das der Weibchen. Im ersteren Falle handelt es sich eben vielfach um Individuen, die auch im allgemeinen mehr durch die Überreife gelitten haben. Auch das überwiegende Auftreten von Kiemendeckelverkürzungen und Verkrüppelungen im männlichen Geschlecht infolge der Überreife gehört hierher. Manche von diesen Männchen mögen vielleicht ursprünglich sich in weiblicher Richtung entwickelt haben und erführen erst später eine Umbildung.

Als Zweites zeigt die Tabelle, daß im weiblichen Geschlecht, und zwar in allen Kulturen, die linke Gonade stets länger ist als die rechte, meist ist sie auch etwas stärker entwickelt, was schon *Jungersten* (1889) konstatiert hat (S. 173). Im männlichen Geschlecht ist es, was die Länge anbetrifft, nahezu umgekehrt, in der Dicke ist jedoch auch hier die linke Gonade meist der rechten voraus.

Drittens sehen wir, daß die Gonadenlänge mit steigender Überreife im weiblichen Geschlecht zunimmt, während sie im männlichen Geschlecht zusehends abnimmt. Der Grund hierfür mag der sein, daß es sich bei den in diesem Alter untersuchten männlichen Tieren wohl noch um Individuen handelt, die erst eine Umbildung durchgemacht hatten, und daher schwach entwickelte Gonaden enthalten, während die wenigen in den Überreifekulturen auf diesem Altersstadium gefundenen Weibchen wahrscheinlich Tiere waren, die aus Eizellen hervorgingen, welche noch verhältnismäßig wenig von den Wirkungen der Überreife betroffen worden waren, infolgedessen die kräftigsten Tiere der Kultur darstellten. Ihre Gonaden sind, sofern sie ursprünglich weiblich waren, auch weiblich geblieben und haben sich natürlich auch entsprechend kräftig entwickelt.

b) Geschlechtsverhältnis.

Die nächste und letzte Tabelle zeigt uns noch das Geschlechtsverhältnis in den verschiedenen Kulturen an.

Tabelle VII.

| Kultur | Anzahl der untersuchten Stücke | | | Zwischenformen | Gonaden verkümmert | In Prozenten | | | |
|--------|--------------------------------|----|----|----------------|--------------------|--------------|----|----------------|--------------------|
| | | ♂ | ♀ | | | ♂ | ♀ | Zwischenformen | Gonaden verkümmert |
| I | 90 | 43 | 47 | — | — | 48 | 52 | — | — |
| II | 105 | 47 | 59 | — | — | 44 | 56 | — | — |
| III | 93 | 32 | 61 | — | — | 34 | 66 | — | — |
| IV | 81 | 38 | 38 | 1 | 4 | 47 | 47 | 1 | 5 |
| V | 57 | 31 | 19 | 7 | — | 55 | 33 | 12 | — |

Aus dieser Tabelle ergibt sich klar, daß die Überreife bis zu einem gewissen Grad, auf welchem man sie aber besser bloß als Vollreife bezeichnet, die Entwicklung weiblicher Tiere begünstigt; steigert man die Überreife noch mehr, so kehrt sich dieses Verhältnis schließlich genau um. Ein Steigern der Überreife bei Regenbogenforellen um noch mehr als 21 Tage ist praktisch wohl schwer durchführbar, da erstens die Mutterfische dieses Experiment kaum vertragen werden und außerdem auch so stark überreife Eier kaum mehr befruchtungsfähig sein dürften. Sollte es aber trotzdem gelingen, so zweifle ich nicht, daß das Geschlechtsverhältnis der Nachkommen aus solchen sehr stark überreifen Eiern sich noch mehr zugunsten der Männchen verschieben würde. Vielleicht ließe sich ein rasches Überreifwerden der Geschlechtsprodukte dadurch erzielen, daß man die Mutterfische während des Verlaufes des Experimentes in höhere Temperaturen bringt. Natürlich dürfen diese nicht so hoch sein, daß die Fische dadurch geschädigt werden. 15 bis 20° C aber würden meiner Ansicht nach wohl vertragen werden, vor allem wenn man das Wasser entsprechend durchlüftet.

Die einzelnen Spalten von Tabelle VII sind ja ohne weiteres verständlich, wobei man die Rubrik »Zwischenformen« und »Gonaden verkümmert«, wohl noch den Männchen zugute rechnen darf; denn besonders bei ersterer besteht nach meinen früher erfolgten Ausführungen über die in den Überreifekulturen stattfindenden Umbildungen wohl kein Zweifel, daß daraus noch Männchen sich entwickelt hätten. — Die Erklärung obigen Ergebnisses halte ich nicht für schwer. Ich will sie hier nur kurz skizzieren. Im nachfolgenden theoretischen Teil soll noch näher darauf eingegangen werden. Wie wir sehen, begünstigen mäßige Grade der Spätbefruchtung die Entwicklung des weiblichen

Geschlechtes, d. h. das Ei erlangt durch diese einen Höhepunkt der Reife, der Vollentwicklung und Bereitschaft zur Befruchtung und gleich darauf folgenden Entwicklung. Ob man diesen Zustand als Vollreife oder als Anfangsstadium der Überreife bezeichnen will, ist gleichgültig. Jedemfalls haben hier die schädigenden Wirkungen der Resorption noch nicht begonnen, das Ei steht im Gegenteil auf dem Höhepunkt günstiger Ernährungsbedingungen, ist, wenn man so sagen darf, überernährt und wirkt, wie dies stets (für Tiere mit Homogametrie im weiblichen Geschlecht) bei reichlicher Ernährung der Geschlechtsdrüsen und deren Produkte der Fall ist, begünstigend auf die Entstehung weiblicher Nachkommen. Damit ist natürlich nicht gesagt, daß ein solcher Zustand besser wäre, als der normale; denn wie die vorhergehenden Tabellen beweisen, ist die Normalkultur ausnahmslos diejenige, die die geringsten Verluste, die wenigsten Krüppelbildungen und die beste Entwicklung im allgemeinen aufweist.

Tritt nun aber bei länger ausgedehnter Spätbefruchtung die Resorption der weiblichen Geschlechtsprodukte bereits in Tätigkeit, so werden die Ernährungsbedingungen der Eier bald verschlechtert und es tritt, wie dies (bei Tieren mit Heterogametrie im männlichen Geschlecht) als eine Folge hiervon immer wieder beobachtet wird, ein Zunehmen männlicher Nachkommen ein, und zwar um so stärker, je mehr Nährstoffe den immer »überreifer« werdenden weiblichen Geschlechtsprodukten durch die fortschreitende Resorption entzogen werden. Ich habe im vorigen Satz überreif in Anführungszeichen gesetzt; denn unter der Bezeichnung Überreife vermag sich wohl niemand etwas Positives vorzustellen, recht wohl aber unter der Bezeichnung »fortgeschrittene Resorption«.

Nach alledem haben wir also bei den Individuen der hier besprochenen Überreifekulturen es mit Tieren von viererlei Beschaffenheit zu tun, wobei natürlich all diese vier Formen durch Übergänge ineinander verschmelzen.

Erstens haben wir männliche Fische, die von den Wirkungen der Überreife noch wenig betroffen worden waren. Sie sind und bleiben Männchen.

Zweitens weibliche Fische, ebenfalls wenig berührt von den Wirkungen der Überreife. Sie sind und bleiben Weibchen. Die Zahl letzterer wird natürlich mit steigender Überreife immer geringer.

Drittens männliche Fische, aus Eiern, denen die Resorption schon stark zugesetzt hatte. Sie werden männliche Tiere mit kümmerlichen Gonaden, Krüppel, Fische mit Kiemendeckelverkürzung, oder Tiere, deren Gonaden ganz verkümmern.

Viertens Fische, ebenfalls aus Eiern, die durch Resorption gelitten haben, die aber ursprünglich eine weibliche Entwicklungsrichtung ein-

schlagen und dann, weil sich die Ernährungsstörungen und die Schädigungen durch die Resorption im Laufe der Entwicklung geltend machen, auf gewissen Stadien, von welchen es mir glücklicherweise gelang, eine Reihe auf Schnitten festzuhalten, sich zu Männchen umbilden. Auch diese Tiere sind natürlich vielfach Krüppel und Kümmerlinge.

VI. Praktische Folgerungen für die Fischzucht.

Als praktisches Ergebnis für den Fischzüchter geht aus all dem eben Geschilderten nur eines hervor: Geringe Grade von Überreife schaden im allgemeinen nur wenig. Durch sie wird die Entstehung von Weibchen gefördert, was ja dem Forellenzüchter nur erwünscht sein kann. Man braucht also beim Ausmustern der reifen Laichfische nicht allzu ängstlich zu sein und kann auch einmal, um eine größere Partie zusammenkommen zu lassen, schon reife Fische ein paar Tage zurückstellen. Immerhin erhöht sich hierdurch die Sterblichkeit bei der Nachzucht und darf man daher die Sorglosigkeit nicht übertreiben; denn starke Grade von Überreife schädigen nicht nur den Mutterfisch, sondern erhöhen auch die Sterblichkeit der Nachzucht ungemein, wobei das überlebende Material meist noch dadurch unbrauchbar wird, daß Mißbildungen einen großen Prozentsatz desselben ausmachen. Auch wird die Entstehung des männlichen Geschlechtes begünstigt, was für den Züchter unerwünscht ist. Wahrscheinlich sind auch die Geschlechtsorgane von Fischen, die aus überreifen Eiern hervorgegangen sind, zeitlebens kümmerlicher als bei normalen Tieren.

Theoretische Erörterungen.

I. Frühere Erklärungsversuche.

Was zunächst aus der vorliegenden Arbeit klar hervorgeht, ist dies: Erklärungsversuche, wie selektive Befruchtung, parthenogenetische Entwicklung der überreifen Eier, Schädigung des Keimepithels (*Kuschakewitsch*) oder ähnliches abnormes Verhalten der Keimzellen infolge der Überreife, ferner Veränderungen in den Reifeteilungen und überhaupt alle jene Erklärungen, welche eine abnorme Veränderung des Chromosomenmechanismus der überreifen Geschlechtsprodukte vor oder bei der Befruchtung annehmen, können keine Geltung finden; denn in all diesen Fällen wäre es nicht möglich, daß zunächst eine scheinbar normale Entwicklung der aus überreifen Keimzellen hervorgegangenen Individuen beobachtet wird, wäre es nicht möglich, daß das Geschlechtsverhältnis auch der Überreifekulturen ungefähr bis zum 250. Tage nach der Befruchtung annähernd 50 : 50 ist, die oben erwähnten Veränderungen müßten sich vielmehr sofort zeigen, zum mindesten aber sobald man das Geschlecht unterscheiden kann.

Es wären ferner im obigen Falle die von mir festgestellten Umbildungen, die erst auf späteren Entwicklungsstadien stattfinden, vollständig unerklärlich.

Ich gehe somit auf diese oben erwähnten Erklärungsversuche hier nicht näher ein. Wer sich trotzdem hierüber näher informieren will, sei auf die Arbeiten von *R. Hertwig* (1905, 1906, 1912 und 1920) und *Kuschakewitsch* (1910) verwiesen.

Aus gleichen Gründen kann auch eine Schichtung der Eier in der Leibeshöhle in männchenbestimmende und weibchenbestimmende nicht in Frage kommen; denn auch hier müßte die Wirkung sofort in den verschiedenen Kulturen in Erscheinung treten. Überdies ist dieser Faktor durch die Untersuchung *R. Hertwigs* (1920) an Fröschen schon sehr unwahrscheinlich geworden.

II. Selektive Sterblichkeit.

Ein Einwand jedoch, der immer wieder gegen Versuche, wie die vorliegenden, gemacht wird, ist der, die sich ergebenden Resultate durch selektive Sterblichkeit zu erklären, und ist die Entgegnung hier deshalb noch erschwert, weil man das Geschlecht der Brut nur sehr schwer auf frühen Entwicklungsstadien bestimmen kann, demnach nicht weiß, ob die zugrunde gegangenen Individuen hauptsächlich *ein* bestimmtes Geschlecht hatten oder die Sterblichkeit sich gleichmäßig auf beide Geschlechter verteilte. Ein Versuch mit Tieren, deren Geschlechtsmerkmale sich frühzeitig erkennen lassen, wäre daher sehr wertvoll; denn der Einwand selektiver Sterblichkeit ist der Hauptangriffspunkt bei solchen Untersuchungen, da in dem Falle, in welchem sich tatsächlich herausstellen würde, daß im Prozentsatz erhöhter Sterblichkeit hauptsächlich z. B. das weibliche Geschlecht betroffen ist, ja gar kein geschlechtsbestimmender Einfluß der Spätbefruchtung vorhanden wäre. Es würde dadurch nur erwiesen, daß die Spätbefruchtung schwache Nachkommen liefert, und daß von diesen das weibliche Geschlecht das hinfälligere ist.

Ich will daher hier diesem Argument besonders entgegentreten und muß mich da zunächst gegen den Einwand wenden, daß die höheren Verluste in den Überreifekulturen für selektive Sterblichkeit sprechen. Erstens lassen sich die großen Verluste an Eiern kurz nach der Besamung nur so erklären, daß es sich bei diesen abgestorbenen Eiern um weibliche Geschlechtsprodukte handelt, die infolge der Überreife nicht mehr befruchtungsfähig waren und somit unbefruchtet zugrunde gingen. Ist nun das weibliche Geschlecht homogamet, was bei Fischen kaum bezweifelt werden kann, so kann eine Selektion hier nicht vor der Befruchtung wirken, da ja erst durch die Vereinigung mit den Spermien die zweierlei Geschlechtsrichtungen zustande kommen.

Aber selbst wenn man annimmt, daß eine selektive Sterblichkeit geherrscht hat, so könnte dieselbe nur in der Zeit von der Befruchtung bis zum Ausschlüpfen und vom Ausschlüpfen bis zur Resorption des Dottersackes gewirkt haben. Nach Resorption des Dottersackes war auch in den Überreifekulturen die Sterblichkeit nicht höher als in der Normalkultur. Hier dann trotzdem noch eine selektive Sterblichkeit anzunehmen, wäre schon sehr gesucht.

Hätte also nun bis zur Resorption des Dottersackes selektive Sterblichkeit gewirkt, so müßte sich dies in der darauffolgenden Zeit, sobald die Geschlechter sich differenziert hatten, bereits gezeigt haben. Meine Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß vor dem 250. Tage nach der Befruchtung das Geschlechtsverhältnis auch in den Überreifekulturen stets 50:50 war.

Es bleibt also nur noch der eine, allerdings schon sehr gesuchte Einwand, daß ja die Umbildung von Weibchen zu Männchen erst mit dem 250. Tage nach der Befruchtung vor sich ging, man es also den vorher abgestorbenen Weibchen nicht ansehen konnte, ob sie sich zu Männchen umgebildet hätten oder nicht. Es könnten nun hier gerade diejenigen Weibchen gestorben sein, die sich *nicht* zu Männchen umgebildet hätten.

Darauf wäre zu antworten, daß diejenigen Weibchen, die sich nicht zu Männchen umbilden, am allerwenigsten Grund zum Absterben haben; denn wenn sie nicht die Tendenz zur Umbildung in sich tragen, dann sind eben die Geschlechtszellen, aus denen sie hervorgingen, von der Überreife nicht beeinflußt worden.

Und überdies, wenn man das veränderte Geschlechtsverhältnis der Nachkommen aus überreifen Eiern auf selektive Sterblichkeit zurückführen will, welchen Sinn haben dann die Umbildungsstadien?

Ferner ist hier zu erwähnen, daß von *Kuschakewitsch* überreife Froschkulturen mit stark verändertem Geschlechtsverhältnis nahezu ohne Verluste aufgezogen worden sind, was natürlich auch bei anderen Überreifekulturen, wenn sie auch mit mehr Verlusten aufwachsen, den Einwand der selektiven Sterblichkeit von vornherein stark entkräftet.

III. Neuere Untersuchungen.

R. Hertwig (1920) hat bei Froschkulturen aus überreifen Eiern gefunden, daß erst im Laufe der Entwicklung das Geschlechtsverhältnis sich zugunsten der männlichen Tiere verschob, indem aus ursprünglich indifferenten Formen sich Männchen entwickelten. *R. Hertwig* hat infolge seiner Untersuchungen seine frühere Ansicht über Erklärungsmöglichkeiten der Überreifeinflüsse auf Grund von Änderungen im Chromosomenmechanismus bei den Reifeteilungen geändert und schreibt dem Plasma Veränderungen zu, die durch die Überreife bedingt sind und erst im Laufe der Entwicklung die sexuelle Potenz

abschwächen. Äußerst wichtig in dieser Beziehung war auch *R. Hertwigs* Befund, daß bei *Limantria dispar*, einem Schmetterling, von welchem Heterogametrie im weiblichen Geschlecht einwandfrei feststeht, die Überreife die Entwicklung des männlichen Geschlechts *nicht* begünstigt, sondern eher die des weiblichen.

Es wäre hier freilich naheliegend, auf einen der alten Erklärungsversuche zurückzugreifen, nämlich den, daß hier im heterogameten weiblichen Geschlecht, durch die Überreife beeinflusst, bei der zweiten Reifeteilung stets das y-Chromosom in den Richtungskörper ginge. Bei der Befruchtung mit den Spermien (des homogameten Geschlechtes) entstünden dann nur Tiere mit einem y-Chromosom, also Weibchen. Ähnlich dachte es sich *R. Hertwig* (1912) seinerzeit beim Frosch, als noch die Möglichkeit gegeben war, anzunehmen, es könnte hier das weibliche Geschlecht heterogamet sein. Nur daß in diesem Falle die Entstehung von *Männchen* aus den Überreifekulturen sich so erklärt hätte, daß bei der Reifeteilung das x-Chromosom niemals in den Richtungskörper ginge, vielmehr stets im Ei erhalten bliebe, wodurch dann bei der Befruchtung nur das homogamete männliche Geschlecht entstanden wäre. Denkbar war ja diese Beeinflussung der zweiten Reifeteilung durch die Überreife, da ja *R. Hertwig* nachgewiesen hatte, daß diese beim Frosch nicht stattfindet, bevor nicht die Eier ins Wasser ausgestoßen wurden. Man kann nun freilich nicht die Schwammspinner und die Frösche als im weiblichen Geschlecht heterogamet annehmen und sich denken, daß zur Erklärung des antagonistischen Resultats, das die Überreife bei diesen beiden Tieren liefert, einmal bei der Reifeteilung die Geschlechtschromosomen bei der einen Tierart in den Richtungskörper gehen, das andere Mal bei der anderen Tierart erhalten bleiben. Nimmt man aber die Frösche und nach meinen Untersuchungen auch die Forellen als heterogamet im männlichen Geschlecht, und zwar mit viel größerer Berechtigung, an, so kommen wir hier, wenn wir an der Erklärung der Überreifetatsachen mit Hilfe der Chromosomen festhalten wollten, ebenfalls nicht zurecht. Es müßten da bei der Reifeteilung der Eier stets beide x-Chromosomen in den Richtungskörper gehen, wodurch dann bei der Befruchtung mit zweierlei Spermien Individuen mit einem x-Chromosom (Männchen) und solche ganz ohne dasselbe entstünden. Und wer kühne Hypothesen liebt, könnte dann letztere als identisch bezeichnen mit den Exemplaren, welche die schon früher erwähnten Entwicklungsstörungen, Krüppelbildungen usw. aufweisen. Nachdem aber in den Überreifekulturen bei Schmetterlingen ebenfalls Krüppelformen aufgetreten sind, läßt sich diese Theorie kaum aufrecht erhalten; denn nach der obigen Erklärung würden ja bei Schmetterlingen in Überreifekulturen Weibchen mit normalen Chromosomenverhältnissen entstehen.

Auch ist zu beachten, daß, wenn der Ausfall *eines* Chromosoms die Verkrüppelungen und Hemmungsbildungen bedingen würde, doch immer nur dieselben Organe und Körperteile betroffen sein müßten, nämlich diejenigen, deren Erbfaktoren in dem betreffenden Chromosom lokalisiert sind. Etwas Derartiges fiel mir jedoch bei den Krüppeln meiner Überreifekulturen nicht auf, vielmehr schien es, als ob nahezu jeder beliebige Körperteil ohne besonderen Unterschied Entwicklungshemmungen bzw. Mißbildungen erfahren könnte, und alle erdenklichen Kombinationen von Mißbildungen verschiedener Körperteile möglich seien. Auch sind diese Anomalien aus Plasmaschädigung allein recht wohl zu erklären.

Ich will diese Widerlegungen früherer Erklärungsversuche der Überreifeinwirkung nicht weiter führen und hier nur noch die Ergebnisse erwähnen, zur denen *H. Eidmann* (1921) gekommen ist. Auch dieser Forscher zog auf Grund seiner Untersuchungen an überreifen Fröschen den Schluß, daß lediglich das Plasma der weiblichen Geschlechtszellen bei Überreifekulturen für die sich daraus ergebenden Resultate verantwortlich zu machen ist, indem es die Entwicklung und erst im Laufe derselben das Chromatin und besonders die Geschlechtschromosomen beeinflusst. Auch er fand, daß sich indifferente Formen und sogar Weibchen auf früheren Entwicklungsstadien von Überreifekulturen anlegten und erst im Laufe der Entwicklung das männliche Geschlecht das Übergewicht erhielt.

So dürfte es nach *R. Hertwig* (1920), *Eidmann* (1921) und nach meinen Untersuchungen als erwiesen gelten, daß durch die Überreife die geschlechtliche Entwicklungsrichtung nicht von vornherein geändert ist, sondern die Änderungen erst im Laufe der Entwicklung im Wege der Umbildung sich geltend machen, daß die Wirkungen der Überreife also zunächst das Plasma betreffen. Außerdem hat durch die Untersuchungen *R. Hertwigs* unsere Auffassung von den Wirkungen der Überreife eine Erweiterung erfahren insofern, als hierdurch wahrscheinlich geworden ist, daß durch sie das heterogamete Geschlecht in der Entstehung begünstigt wird. Überreife würde also das Geschlecht mit niedriger Chromosomenzahl erzeugen. Es wäre demnach dasjenige Chromosom, dessen Gegenwart das Geschlecht mit höherer Chromosomenzahl bedingt, am ehesten schädlichen Wirkungen zugänglich und somit der Erschütterung und schließlichen Auflösung am ehesten ausgesetzt. Das ist ja auch einleuchtend; denn das Individuum kann dieses Chromosom am besten entbehren. Es nimmt mit dessen Verlust nur das heterogamete Geschlecht an. Daß aber bei starker Überreife auch andere Chromosomen nicht ungeschädigt davon kommen, kann man immerhin annehmen und dafür, wenn man will, die Krüppel- und Mißbildungen ins Treffen führen, welche derartige Überreife mit sich bringt.

IV. Erklärungen nach dem heutigen Stand des Überreifeproblems.

A. Indifferenz der Keimzellen.

Wir müssen uns also nun nach anderen Erklärungen umsehen.

Eine schon etwas näher liegende wäre die, die Keimzellen überhaupt als indifferent zu erklären. Die beiden Geschlechtstendenzen könnten sich in den Gonaden der Überreifesprößlinge zunächst neben einander entwickeln, und erst durch die allmählich zutage tretenden Wirkungen der Überreife würde dann eine der beiden Tendenzen zum vollen Überwiegen gelangen.

Besonders würde sich dies bei Arten mit stark labilem sexuellen Gleichgewicht geltend machen, wie bei Amphibien; bei anderen, z. B. Daphniden oder *Dinophilus*, ist eine Umstimmung der Tendenz der Keimzellen, wenn sie einmal gebildet sind, infolge zu starken Überwiegens in einer bestimmten Direktion nicht mehr möglich.

Daß die Geschlechtsorgane bei jungen Fröschen ursprünglich zwittrig oder besser indifferent angelegt sind, haben ja die Untersuchungen *Pflügers* (1882) und *R. Hertwigs* ergeben. Für Neunaugen hat *Okkelberg* (1920), für Salmoniden die vorliegende Arbeit das Gleiche gezeigt.

Etwas Sophismus liegt aber in obigem Erklärungsversuch immerhin; denn bei genauerem Hinsehen kommt man um die Anlage geschlechtsbestimmender Tendenzen nie ganz herum. Sehr bezeichnend drückt sich in diesem Punkte *de Meijere* (1910) aus: »Bei der Frage der Geschlechtsbestimmung ist stets das zu bedenken, daß beide Komplexe immer von vornherein vorhanden sind und es sich bei der Bestimmung immer nur um ein Überwiegen des einen Geschlechtes handeln kann. Ein Umtausch durch besondere Reize des einmal bestimmten Geschlechtes in das andere ist, falls der Reiz zeitig genug einwirkt, a priori als möglich zu betrachten, wie auch von *Correns* betont worden ist.«

Auch nach den neuen Untersuchungen *Goldschmidts* (1920) über Intersexualität ruhen ja in jedem Individuum latent die Merkmale und Eigenschaften des anderen Geschlechts, nur gehemmt durch Hormone, deren Erzeugung ihren Sitz in den Geschlechtsdrüsen hat. Hört z. B. im Alter oder durch Kastration die Erzeugung dieser Hemmungsstoffe auf, so entwickeln sich dann auch die Merkmale des anderen Geschlechts (hahnenfedrige Hennen, *Xiphophorus helleri*-Weibchen mit Schwert usw.), ebenso werden im Verlaufe der Entwicklung jedes Individuums sowohl Hormone produziert, die das weibliche, als auch solche, die das männliche Geschlecht bedingen, nur erfolgt normalerweise die Produktion der einen der beiden Sorten so langsam, daß diejenige der anderen stets das Übergewicht behält.

Aber auch mit einer Interpretierung der Überreifefrage durch obige Erklärungsmöglichkeit ist uns, obwohl sie schon manches für sich hat, noch nicht ganz gedient. Sie erklärt vor allem nicht zureichend, warum in Überreifeulturen sich zuerst beide Geschlechter scheinbar normal entwickeln können und dann erst die Umbildungen stattfinden.

B. Ernährung der Keimzellen.

Wir können ruhig annehmen, daß die befruchteten Eier, aus welchen sich die Individuen der Überreifeulturen entwickelt haben, durch geschlechtsbestimmende Chromosomen für ein bestimmtes Geschlecht prädestiniert waren. Wissen wir doch schon durch die in der Einleitung angeführten Beispiele, daß metagam noch Beeinflussungen und Änderungen möglich sind. So ist es, um nur noch ein Beispiel anzuführen, *R. Hertwig* gelungen, metagam durch Kältewirkung junge Fröschen, die schon in der Ovarialbildung begriffen waren, zur Bildung von Hoden zu veranlassen. Die einzige Möglichkeit, die alle die erwähnten Ergebnisse erklärt, ist demnach die, daß unabhängig von der geschlechtlichen Tendenz des Chromosomenkomplexes der Keimzellen durch die Überreife im Plasma Faktoren teils chemischer, teils physikalischer Natur gebildet werden, die sich erst im Laufe der Entwicklung für den Chromosomenmechanismus geltend machen, woselbst es dann zur allmählichen Erschütterung und schließlich Elimination bzw. Auflösung eines Heterochromosoms kommt; natürlich nur bei denjenigen Individuen, bei welchen zwei Heterochromosomen vorhanden sind.

In Fällen, in welchen die Umkehrung des Geschlechtes nicht erreicht wird, kann es zur Entstehung indifferent bleibender Formen kommen. In diese Ansicht fügen sich sowohl die Ergebnisse bei Tierarten mit weiblicher Homogametie ein (Frösche, Fische), als auch solche bei Tieren mit weiblicher Heterogametie (Schmetterlinge). In beiden Fällen entsteht bei Überreife das heterogamete Geschlecht.

Welches ist nun die chemisch-physikalische Natur der Faktoren, die durch die Überreife dem Plasma der Eizellen mitgeteilt werden?

In der Einleitung bereits wurde an zahlreichen Angaben früherer Autoren gezeigt, daß es hauptsächlich die Ernährung der Keimzellen ist, durch welche diese in ihrer Geschlechtstendenz verändert werden können. Die Angaben dieser Autoren müssen wir nach dem Vorhergehenden freilich einseitig nennen. Sie besagen, daß gute Ernährung das weibliche Geschlecht, schlechte das männliche Geschlecht begünstigt. Wollen wir diese These gemeinsam mit den über die Überreife bekannten Tatsachen erklären, so müssen wir sie dahingehend erweitern, daß gute Ernährung das homogamete, schlechte hingegen das heterogamete Geschlecht begünstigt. Daß von früheren Autoren

die Angaben nur einseitig waren, mag damit zusammenhängen, daß Homogamete im männlichen Geschlecht viel seltener ist, somit unter die früheren Angaben nur Tiere mit männlicher Heterogamete fallen; denn die Angaben von Landois bei Raupen haben sich ja als falsch erwiesen.

Die Überreife ist meiner Anschauung nach nichts anderes als eine Ernährungsfrage der Keimzellen. Als Ergebnis der Überreife entsteht das heterogamete Geschlecht. Es muß sich also die Überreife als eine schlechte Ernährungsform der Keimzellen repräsentieren.

1. Die Resorption als schlechte Ernährungsform.

Als solche schlechte Ernährungsform ist nach meinem Dafürhalten (besonders deutlich bei Fischen) die mit steigender Überreife fortschreitende Resorption der weiblichen Geschlechtszellen innerhalb der Leibeshöhle anzusehen. Bei anderen Tiergattungen kommt jeweils statt der Leibeshöhle der Ort der Lagerung der Geschlechtszellen bei der Resorption in Betracht. Findet statt der Resorption eine Entleerung der überreifen weiblichen Geschlechtsprodukte statt, was für verschiedene, besonders höhere, Tiere behauptet wird, jedoch meines Wissens vielfach noch gar nicht so unumstößlich nachgewiesen ist, so ändert das nichts am Prinzip meiner Auffassung; denn der Abstoßung überreifer weiblicher Geschlechtsprodukte geht jedenfalls stets eine Periode voraus, in welcher denselben Nährstoffe entzogen, zum mindesten aber vorenthalten werden.

2. Arten der Resorption.

Bei dem Begriff der Resorption muß man wohl unterscheiden, zwischen der Resorption, die im Ovar stattfindet und Eier betrifft, die voraussichtlich nie zur Reife gelangen werden, wie sie unter der Bezeichnung Follikelatresie bekannt ist, und der Resorption schon gereifter Eier, welche im Uterus bzw. wie z. B. bei Salmoniden in der Leibeshöhle stattfindet. Einen besonderen Fall bilden hier die Frösche. Da bei diesen der Follikelsprung durch die Umklammerung des Männchens herbeigeführt wird, kann es vorkommen, daß die Eier bei Weibchen, die keine Partner finden, im Ovar verbleiben. Ein solcher Fall führt meistens zum Tode des Weibchens. Ist jedoch der Follikelsprung schon herbeigeführt und wird erst dann das Pärchen getrennt, so tritt Resorption ein. In den meisten Fällen freilich setzt das Weibchen dann auch ohne Gegenwart des Männchens die Eier ab.

3. Die Wirkungen der Resorption.

Die Resorption nun dürfte zunächst Ernährungs- und sonstige Stoffwechselstörungen für die weiblichen Geschlechtsprodukte hervorrufen.

Diese wiederum haben einen ändernden Einfluß auf die Kernplasmarelation und auf die Entwicklung im allgemeinen, wie ja die vielen Mißbildungen bei Überreifekulturen zeigen. Es ist nun doch sehr nahe liegend, daß hierbei auch die normale Hormonenbildung eine Änderung erleidet und so die Umbildung des Geschlechtes hervorgerufen wird, das ursprünglich durch geschlechtsbestimmende Chromosomen ganz gut schon vorgesehen gewesen sein kann, oder besser ausgedrückt im Plasma des reifen Eies sind durch die erwähnten Ernährungsstörungen und deren Folgen schon vor der Befruchtung Bedingungen geschaffen worden, die auf die Geschlechtstendenz des heterogameten Geschlechtes hinzielen, so daß die Befruchtung und mit ihr die eventuelle Wirkung der Geschlechtschromosomen nicht allein von Einfluß ist. Eine eventuell beginnende Entwicklung in der Richtung des homogameten Geschlechtes wird überflügelt und zurückgedrängt von den allzu starken gegenteiligen Tendenzen, so daß es im Laufe der Entwicklung, sei es zu einer Elimination, sei es zu einer Abschwächung des zweiten Heterochromosoms kommt.

Wie soll man sich nun die Bedingungen vorstellen, die durch die Ernährungsstörungen im Plasma des überreifen Eies geschaffen werden, und wie die Wechselwirkungen zwischen Plasma und Chromosomen?

a) Änderung der Kernplasmarelation.

Wir haben schon der Kernplasmarelation Erwähnung getan, die unter Umständen eine Veränderung erleiden könnte. Schon 1905 hat *R. Hertwig* auf diesen Punkt hingewiesen, nur war seine Ansicht damals noch beherrscht von dem Gedanken, die Wirkungen der Überreife durch Veränderung des Chromosomenmechanismus bei der zweiten Richtungsteilung zu erklären. Er brachte damals die Prädisposition verfrüht gereifter und überreifer Eier zur Kernplasmarelation in Beziehung. Bei frühreifen Eiern sei das Plasma noch ungenügend ausgebildet. Nach der obigen Erwägung bezüglich Resorption wäre das gleiche aber auch wieder bei überreifen Eiern zu sagen. Es wäre demnach die damalige Ansicht *R. Hertwigs* insofern abzuändern, als man nicht eine positive Zunahme des Chromatingehalts der überreifen Eier aus $\frac{K}{P}$ in $\frac{K+k}{P}$, die mir nicht genügend motiviert erscheint, sondern eine Verminderung des Protoplasmagehalts bei gleichbleibendem Chromatingehalt $\left(\frac{K}{P} \text{ in } \frac{K}{P-p} \right)$ annimmt, was in bezug auf die Kernplasmarelation im Effekt ja auf das gleiche hinauskommt, mir aber besonders z. B. bei Fischen durch die eintretende Resorption der Eier bei Überreife gerechtfertigter erscheint. Es wäre demnach hier die Hilfhypothese der parthenogenetischen Entwicklungsanregung der

Eier durch die Überreife und des dadurch erzielten Überwiegens männlicher Tendenz unnötig. Die Kurve von der *R. Hertwig* (1906) spricht, erklärt sich dann, wie ja schon erwähnt, folgendermaßen: Frühreif = männlich (Protoplasma noch zu spärlich); Reif = weiblich und männlich (die meisten Eier haben wohlentwickeltes Protoplasma); Überreif = männlich (Protoplasma zum Teil schon resorbiert).

b) Hormonale Wirkungen.

Außerdem könnte man daran denken, daß durch die Plasmaveränderungen infolge der Überreife, wie wir sie eben besprochen haben, die Allgemeinentwicklung gestört wird, und daß hierunter natürlich u. a. auch die endokrinen Drüsen zu leiden haben. Es bestehen nun unter diesen Drüsen, zu denen ja auch die Gonaden gehören, Wechselwirkungen, wie sie ja die Untersuchungen *Steinachs* ergeben haben. So beeinflussen Wucherungen der Pubertätsdrüse und hierdurch hervorgerufene Bildung von Hormonen das Wachstum der Thyreoidea und wirken somit indirekt auf den Stoffwechsel des ganzen Individuums ein. Umgekehrt wurde von *Leo Adler* (1916 und 1917) an den in den Überreifekulturen *R. Hertwigs* gezogenen Froschmännchen eine kropfartige Mißbildung der Schilddrüse und Wucherung der Thymusdrüse entdeckt. Die krankhaften Veränderungen dieser sich früher als die Geschlechtsorgane differenzierenden endokrinen Drüsen könnten nun wohl ihrerseits durch Hormonenbildung einen Einfluß auf die Geschlechtsorgane ausüben. Bei Fröschen ist dies auch nach Ansicht *O. Hertwigs*¹⁾ um so eher möglich, als diese nach der Metamorphose noch meist längere Zeit geschlechtlich indifferent sind und somit eine Umstimmung offenbar leichter erfolgen kann.

Eine Umdifferenzierung von Eierstöcken in Hoden kann nach *R. Hertwig* (1906) bei Fröschen oft noch sehr spät erfolgen, da diese ein hochgradig labiles sexuelles Gleichgewicht besitzen. Ebenso verhält es sich nach meinen Untersuchungen bei den Salmoniden.

Wechselwirkungen zwischen Gonaden und den übrigen endokrinen Drüsen — Hypophysis und Thyreoidea — sind überdies auch sonst verschiedentlich festgestellt worden, so von *Hahn*, der bei Riesenkaulquappen mit heterotrophischer Hypophyse Gonaden von äußerst weit fortgeschrittener Entwicklung feststellte.

Weiterhin hat *Leo Adler* (1916) aber gezeigt, daß nicht nur Überreife der Eier, sondern z. B. auch Anwendung extremer Temperaturen Wucherungen der Schilddrüse hervorrufen kann. Ich führe dies als Beispiel dafür an, wie all die äußeren Faktoren wie Temperatur, Er-

¹⁾ Allgemeine Biologie.

nährung, Überreife untereinander verwandt sind und ein und dieselben Wirkungen erzeugen.

Hier kann die Meinung *Witschis* (1914) Geltung finden, daß die Überreife gleich anderen äußeren Faktoren hauptsächlich die trophischen Zustände im Ei und im werdenden Organismus verändert und so Wirkungen auch auf die endokrinen Drüsen, die ja wieder durch Wechselbeziehungen untereinander in Abhängigkeit stehen, ausübt.

V. Der Zeitpunkt der endgültigen Festlegung des Geschlechtes.

Wenn wir nun so gesehen haben, wie verhältnismäßig leicht die geschlechtlichen Tendenzen der Keimzellen zu beeinflussen sind und wie auch auf späteren Entwicklungsstadien Umbildungen der Gonaden und somit des Geschlechtes stattfinden können, dann kommen wir unwillkürlich dazu, uns zu fragen, wann ist nun eigentlich das Geschlecht endgültig festgelegt?

Diese Frage ist vielfach diskutiert worden. Es will mir jedoch scheinen, daß die Voraussetzungen, von denen man ausging, zu verschieden waren und deshalb so wenig Einigung erzielt wurde. Tatsächlich sind aber, außer bei *Bonellia*, noch wenig Beweise vorhanden, daß das Geschlecht bzw. die geschlechtliche Richtung, in welcher sich die Entwicklung des heranwachsenden Organismus bewegt, nach der Befruchtung tatsächlich noch unbestimmt ist. Mag der Organismus auch noch bis in späte Entwicklungsstadien hinein als Intersex erscheinen, wer kann behaupten, daß nicht doch schon mit stattgehabter Befruchtung, oder in manchen Fällen sogar schon vor derselben, auch die Richtung festgelegt war, in welcher er sich entwickeln würde, oder anders ausgedrückt, das Überwiegen der einen geschlechtlichen Tendenz über die andere schon vorbestimmt war? Denn man darf doch nicht immer als gleich annehmen, was man mit unseren Untersuchungsmitteln nicht voneinander unterscheiden kann. Wohl können die Eier im Mutterkörper und, wenn sie für einen solchen Einfluß überhaupt in Frage kommen, event. auch die Spermien im Vaterkörper, durch äußere Beeinflussung wie Nahrungsentzug, Überreife usw. derartige Veränderungen erleiden, daß trotz vielleicht vorhandener, das gegenteilige Geschlecht unter normalen Umständen bedingender Geschlechtschromosomen die betreffenden Keimzellen einen inneren Anstoß erhalten, der sich, sobald dann die Befruchtung erfolgt ist, auszuwirken beginnt und, wenn auch vorerst latent, sich schließlich doch durchsetzt, so daß die Heterochromosomen in diesem Fall keinen ausschlaggebenden Einfluß ausüben können. Außer im Falle bei *Bonellia* aber nach der Befruchtung eine noch mögliche Veränderung der Geschlechtsrichtung durch natürliche äußere Faktoren zu behaupten,

scheint mir vorläufig noch wenig Berechtigung zu haben; denn jene rein operativen Eingriffe, bei welchen die Keimdrüsen des einen Geschlechts durch die des anderen ersetzt werden, und die krankhaften Veränderungen durch Parasiten stellen ja Einflüsse eines fremden Organismus dar, die man nicht gut hierher rechnen kann. Hier wird ja dem Organismus das andere Geschlecht sozusagen aufgezwungen.

Durch äußere Faktoren werden die einzelnen Individuen also meist nur dahingehend beeinflusst, daß sie durch dieselben zu Männchen- bzw. Weibchen-*Erzeugern* werden, indem ihre Keimzellen noch vor der Befruchtung Veränderungen erleiden, die somit zwar schon vor der Befruchtung vorhanden sind, wohl aber meistens erst längere Zeit nach dieser im Laufe der Entwicklung zur Auswirkung kommen.

Fast allenthalben sind aber diese äußeren Faktoren nur Modifikationen eines einzigen, nämlich günstiger oder ungünstiger Ernährung der Keimzellen vor der Befruchtung.

Solche Modifikationen sind, wie schon früher angeführt: Kälte oder Wärme, hypo- oder hypertonische Lösungen, Sauerstoffreichtum und Sauerstoffarmut, Vollreife und Früh- oder Überreife.

Untersucht wurden diese Einflüsse bis jetzt fast ausschließlich in ihrer Wirkung auf weibliche Keimzellen. Ob die männlichen Keimzellen auch eine Rolle in dieser Hinsicht spielen, ist noch nicht genügend bekannt.

Schlußbemerkung.

Zum Schlusse aber müssen wir uns eines gestehen: Trotzdem das Experiment und dessen Ausgang Resultate gezeitigt haben, die vieles Neue brachten, können wir uns doch nicht zufrieden geben. Allgemeinere Fragen tauchen auf: Was verstehen wir z. B. unter den Begriffen männlich und weiblich und wodurch unterscheiden sie sich letzten Endes? Diese Frage wird um so akuter, je niedriger die Tierklasse steht, um die es sich handelt, je unabhängiger die Geschlechtszellen vom Mutterorganismus sind.

Wir vermögen diese Frage nur unvollkommen zu beantworten. Eines aber ist sicher, daß der schroffe Gegensatz, in den man die beiden Geschlechter noch bis vor nicht allzu langer Zeit zueinander gestellt hat, ganz verschwinden muß, wenn wir bedenken, wie leicht auf jungen Entwicklungsstadien sowohl das eine als auch das andere Geschlecht sich bilden kann und weiterhin die Tatsache in Betracht ziehen, die man auch viel früher schon hätte respektieren sollen, daß ja aus der Vereinigung der Geschlechtszellen zweier Individuen wieder Individuen sowohl des einen als auch des anderen Geschlechtes entstehen.

Zusammenfassung der wichtigsten Resultate.

1. Die Überreife der weiblichen Geschlechtsprodukte schädigt den Mutterfisch.
2. Ein partienweises Abläichen bei Forellen ist höchst unwahrscheinlich.
3. Durch Haltung einer größeren Anzahl von Forellen im Aquarium wird das Wachstum beeinträchtigt.
4. Der Grad der Überreife der weiblichen Geschlechtsprodukte ist auf frühen Entwicklungsstadien der Sterblichkeit der Nachkommen direkt proportional; im selben Maße beeinträchtigt er die Befruchtungsfähigkeit der Eier¹⁾.
5. Nach der Resorption des Dottersackes beschleunigt die durch

¹⁾ Für das Resultat über Beeinträchtigung der Befruchtungsfähigkeit der Eier durch die Überreife ist zwar der Beweis nicht exakt erbracht; immerhin ist es höchst wahrscheinlich, daß die hohen Verluste an Eiern in den Überreife-kulturen, die gleich in den ersten Tagen nach der versuchten Befruchtung eintraten, dann aber plötzlich nachließen und in normale Bahnen einlenkten, daher rührten, daß eben diese Eier nicht angegangen waren und unbefruchtet zugrunde gingen. Andererseits können aber auch unbefruchtete Eier lange Zeit hindurch lebensfähig sein und sich ohne Zuhilfenahme von chemischen Methoden äußerlich in nichts von befruchteten Eiern unterscheiden. Leider hatte ich es verabsäumt durch Reaktion die abgestorbenen Eier exakt daraufhin zu untersuchen, ob sie befruchtet waren oder nicht. Ich möchte aber doch für etwaige spätere Untersuchungen auf diesem Gebiete es nicht unerwähnt lassen, daß es für diesen Zweck eine sehr einfache Untersuchungsmethode gibt, durch welche man lebende und frisch abgestorbene Eier daraufhin untersuchen kann, ob sie befruchtet sind oder nicht. Dieses Mittel gibt *Hofer* (1892) in Nr. 6 der Allgemeinen Fischereizeitung und *Plehn* (1922) an. Man bringt die fraglichen Eier in eine Lösung von:

| | |
|--------------------|-----------------|
| 30 T. Alkohol | 96 ‰ |
| 4 T. Salpetersäure | 10 ‰ |
| 3 T. Chromsäure | $\frac{1}{2}$ ‰ |

Nach 5 Minuten gerinnt die Keimscheibe und hebt sich deutlich vom Dotter ab. Das Bild wird ungefähr nach 15 Minuten am schärfsten.

War das Ei befruchtet, so kann man schon mit Lupenvergrößerung am ersten Tage nach der Befruchtung das Zweizellenstadium an der Keimscheibe beobachten. Je nach der Wassertemperatur und der daraus folgenden Schnelligkeit der Entwicklung sind dann an den folgenden Tagen nach der Befruchtung die weiteren Furchungsstadien zu erkennen. Bei 8° C Wassertemperatur am 2. Tage nach der Befruchtung das Vierzellenstadium, am 3. Tage 32 Zellen. Die weiteren Stadien sind schwerer erkennbar und treten ungefähr bis zum 8. Tage nach der Befruchtung dann Bilder auf, die mit der strukturlosen Keimscheibe unbefruchteter Eier leicht verwechselt werden können. Vom 8. Tage nach der Befruchtung an zeigt die Keimscheibe befruchteter Eier das Bild einer trüben kreisförmigen Scheibe, die an einem Teil ihres Randes von einer feinen weißen Sichel begrenzt wird, von dieser aus strebt ein breiter weißer Streifen der Mitte zu. Am 10. Tage nach der Befruchtung sind Kopf und Augen zu erkennen. Von da an ist die Unterscheidung auch ohne Behandlung möglich.

die Überreife der weiblichen Geschlechtsprodukte bedingte Beschaffenheit der daraus hervorgegangenen Individuen zunächst das Wachstum, späterhin aber verringert sie dasselbe. Die Unterschiede im Vergleich zu normalen Individuen sind jedoch gering.

6. In Überreifekulturen sind die Größenunterschiede zwischen den einzelnen Fischen größer als in Normalkulturen.

7. Die Entwicklung von der Befruchtung bis zur Resorption des Dottersackes wird um so mehr verlangsamt, je höher der Grad der Überreife der weiblichen Geschlechtsprodukte war.

8. Mit steigender Überreife der weiblichen Geschlechtsprodukte vermehrt sich bei den hieraus hervorgegangenen Individuen der Prozentsatz der Miß- und Doppelbildungen. Da nach Angaben früherer Autoren solche Mißbildungen durch Plasmaschädigungen hervorgerufen werden können, so ist der Grund für das Entstehen derselben in unserem Fall höchstwahrscheinlich darin zu suchen, daß bei fortgeschrittener Überreife die Eier schon teilweise der Resorption anheim fallen, wodurch dann dem Plasma Stoffe entzogen oder zum mindesten vor-
enthalten werden.

9. Mit steigender Überreife der weiblichen Geschlechtsprodukte erhöht sich bei den hieraus hervorgegangenen Nachkommen der Prozentsatz der Fische mit Kiemendeckelverkürzung.

10. Kiemendeckelverkürzungen sind im männlichen Geschlecht zahlreicher als im weiblichen.

11. Fische mit Kiemendeckelverkürzung sind auch im Wachstum zurückgeblieben.

12. Bei der Regenbogenforelle sind auf jungen Stadien zunächst die Gonaden indifferent. Sodann treten alle Fische in ein Stadium ein, auf welchem die Keimdrüsen den Eindruck machen, als ob sie sich in weiblicher Richtung entwickeln wollten und erst nach diesem Stadium degenerieren bei ungefähr 50% der Fischchen die eiähnlichen Keimzellen und die Gonaden nehmen durch Vermehrung der Keimzellen, die nicht ins Wachstumsstadium eingetreten sind, männlichen Charakter an, während bei der anderen Hälfte der Fischchen durch vermehrtes Wachstum von Keimzellen ovariale Strukturen entstehen.

13. Je höher der Grad der Überreife ist, desto mehr Fälle von abnorm gebildeten Gonaden kommen beim weiblichen Geschlecht vor.

14. Bei der Regenbogenforelle ist im weiblichen Geschlecht die linke Gonade stets länger und stärker entwickelt als die rechte.

15. Die Entwicklung der Keimdrüsen und Keimzellen ist bei der Regenbogenforelle für beide Geschlechter auch in den Überreifekulturen zunächst von normalem Anschein. Erst in einem gewissen Altersstadium hört bei einem Prozentsatz der Fische weiblicher Tendenz, der um so größer ist, aus je überreiferen Eiern die Kulturen hervor-

gegangen sind, die Entwicklung in weiblicher Richtung auf. Die eiförmigen Zellen degenerieren und die Gonaden gehen, in kaudokraniel Richtung fortschreitend, zu männlicher Tendenz über.

16. Durch die Überreife wird also das Plasma der Eizellen verändert und nicht gleich anfangs der Chromosomenmechanismus; da sonst die Geschlechter sich nicht erst normal entwickeln könnten.

17. Nach vielen Angaben früherer Autoren begünstigen Ernährungsstörungen, von denen die Keimzellen und Keimdrüsen betroffen werden die Entwicklung männlicher Tendenz (bei Tieren mit Heterogametrie im männlichen Geschlecht). Auch die sich gleichartig äußernden Einwirkungen der Überreife dürften mit großer Wahrscheinlichkeit auf Stoffwechselstörungen zurückzuführen sein, die zunächst das Plasma schädigen, wodurch im Laufe der Entwicklung auch der Chromosomenmechanismus verändert wird.

18. Die Stoffwechselstörungen infolge der Überreife hängen höchstwahrscheinlich damit zusammen, daß mit steigenden Graden der Überreife die weiblichen Keimzellen mehr und mehr der Resorption anheim fallen, wodurch dem Plasma Stoffe entzogen oder zum mindesten vorenthalten werden.

19. Da die neuesten Untersuchungen dafür sprechen, daß die Überreife die Entwicklung des heterogameten Geschlechtes begünstigt und bei der Regenbogenforelle durch die Spätbefruchtung ein Überwiegen männlicher Nachkommen erzielt wird, so dürfte demnach die Regenbogenforelle im männlichen Geschlecht heterogamet sein.

Benützte und zitierte Literatur.

- Adler, L., Untersuchungen über Entstehung der Amphibienneotenie. Zugleich ein Beitrag zur Physiologie der Amphibienschilddrüse. Pflügers Archiv, Bd. 164, 1916. — Ders., Metamorphosestudien an Batrachierlarven. II. Der Einfluß überreifer Eier. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 43, Heft 3, 1917. — Beard, J., The morphological continuity of the germ-cells in *Raya batis*. Anatom. Anzeiger, Bd. 18, 1900, zit. nach Böhi — Böhi, U., Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Leibeshöhle und der Genitalanlage bei den Salmoniden. Morph. Jahrb., Bd. 32, 1904. — Brock, Untersuchungen über die Geschlechtsorgane einiger Muränoiden. Mitteil. aus der zool. Station in Neapel, Bd. II, 1881, zit. nach Böhi. — Correns, C., u. Goldschmidt, Die Vererbung und Bestimmung des Geschlechts. Berlin 1913, Bornträger. — Delage, Y., Le sexe chez les oursins issus de parthénogenèse expérimentale. C. R. Acad. Paris, Vol. 148, 1919, zit. nach Correns. — Demoll u. Wohlgemuth, Einiges über die Lebensbedingungen der Forellenbrut im Freien. Biol. Zentralbl., Bd. 41, 1921. — Diessner, B., Die künstliche Zucht der Forelle. J. Neumann, Neudamm, 1902. — Doncaster, L., On sex inheritances in the moth *Abraxas grossulariata* and its var. *lacticolor*. Proc. Zool. Soc., 1906, Vol. I, p. 125, und Rep. Evol. Comm. Roy. Soc. 1908, Rep. IV, zit. nach Correns. — Driesch u. Morgan, Zur Analysis der ersten Entwicklungsstadien des Ctenophoreneies. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 2, 1895. — Eidmann, H., Über Wachstumsstörungen bei Amphibienlarven. Arch. f. Entw.-Mech.,

Bd. 49, 1921. — Ders., Die Einwirkung der Überreife auf Eier von *Rana temporaria*. Biol. Zentralbl., Bd. 42, 1922. — *Eigenmann, C. H.*, Sex differentiation in the viviparous Teleost *Cymatogaster*. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 4, 1896, zit. nach Böhi. — *Frederow, V.*, Über die Wanderung der Genitalzellen bei *Salmo fario*. Anat. Anzeiger, Bd. 31, 1907. — *Felix, W.*, Beiträge zur Entwicklungsgeschichte der Salmoniden. Merkel-Bonnets Anat. Hefte, Bd. 8, 1897. — Ders., Die Entwicklung der Keimdrüsen und ihrer Ausführungsgänge. Handb. d. vergl. u. exp. Entw.-Lehre d. Wirbeltiere v. O. Hertwig, 1906, Bd. 3, I. Teil — *Fränkel, L.*, siehe *Liepmanns* Handb. der ges. Frauenheilk., Bd. III, zit. nach *Nascek*. — *Gerling, R.*, Knaben oder Mädchen nach dem Wunsch der Eltern. Orania-verlag, Oranienburg. — *Gerschler, W.*, Über alternative Vererbung bei Kreuzung von Cyprinodontiden-Gattungen. Zeitschr. f. indukt. Abst.- und Vererb.-Lehre, Bd. 12, 1914. — *Godlewsky, E.*, Plasma und Kernsubstanz in der normalen und der durch äußere Faktoren veränderten Entwicklung der Echiniden. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 26, 1908. — *Goldschmidt, R.*, Mechanismus und Physiologie der Geschlechtsbestimmung. Berlin, Bornträger, 1920. — *Gross, J.*, Über intermediäre und alternative Vererbung. Biol. Zentralbl., Bd. 32, 1912. — *Haecker, V.*, Praxis der Zellen- und Befruchtungslehre. Fischer, Jena, 1899. — *Hahn, A.*, Einige Beobachtungen an Riesenlarven von *Rana esculenta*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 80, 1912, zit. nach *Eidmann*. — *Herbst, C.*, Vererbungsstudien I—VII. 1906, 1907, 1909 und 1912. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 21, 22, 24, 27, 34. — Ders., Vererbungsstudien VIII u. IX. Sitzungsber. der Heidelberger Akad. d. Wissensch., S. Abh. 1913. — *Hertwig, G.*, Das Sexualitätsproblem. Biol. Zentralbl., Bd. 41, 1921. — *Hertwig, O.*, Allgemeine Biologie. Fischer, Jena, 1920. — Ders., Mißbildungen und Mehrfachbildungen, die durch Störung der ersten Entwicklungsprozesse hervorgerufen werden. 1903, Handb. d. vergl. u. experim. Entw.-Lehre d. Wirbeltiere v. O. Hertwig, 1906, Bd. 1, I. Teil. — *Hertwig, O. u. R.*, Experimentelle Untersuchungen über die Bedingungen der Bastardbefruchtung. Jen. Zeitschr., Bd. 19, 1886. — *Hertwig, P.*, Abweichende Form der Parthenogenese bei einer Mutation von *Rhabditis pellio*. Arch. f. mikr. Anat., Festschr. f. O. Hertwig, 1920, zit. nach O. Hertwig. — *Hertwig, R.*, Über das Problem der sexuellen Differenzierung. Verh. d. deutsch. zool. Ges., 1905, 1906, 1907. — Ders., Über den derzeitigen Stand des Sexualitätsproblems. Biol. Zentralbl., Bd. 32, 1912. — Ders., Über den Einfluß der Überreife der Eier auf das Geschlechtsverhältnis bei Fröschen und Schmetterlingen. Sitzungsber. d. Bayer. Akad. d. Wissensch., Math.-physik. Klasse, 1921. — *Hoffmann, C. K.*, Zur Entwicklungsgeschichte der Urogenitalorgane bei den Anamnia. Zeitschr. f. Wissensch. Zool., Bd. 44, 1896, zit. nach Böhi. — *Jungersen, H. F. E.*, Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung der Geschlechtsorgane bei den Knochenfischen. Arb. aus dem zool.-zootom. Inst. in Würzburg, Bd. 9, 1889. — *King, H.*, Studies on sex determination in amphibians. Biol. Bull., Vol. 20, No. 4, zit. nach R. Hertwig. — *Dies.*, Temperature as a factor in the determination of sex in amphibians. Biol. Bull., Vol. 18, No. 3, zit. nach R. Hertwig. — *Koehler, O.*, Über die Ursachen der Variabilität bei Gattungsbastarden von Echiniden, insbesondere über den Einfluß des Reifegrades der Gameten auf die Vererbungsrichtung. Zeitschr. f. indukt. Abst.- u. Vererbungslehre, Bd. 15, 1915/16. — *Kowalewsky, S.*, der geschlechtsbestimmende Faktor bei Tieren. Biol. Zentralbl., Bd. 31, Nr. 18, 1911. — *Krediet, G.*, Ovariotestes bei der Ziege. Biol. Zentralbl., 1921. — *Kupelwieser, H.*, Entwicklungserregung bei Seeigeleiern durch Molluskensperma. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 26, 1909, zit. nach Lang. — *Kuschakewitsch, S.*, Die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von *Rana esculenta*. Festschr. f. R. Hertwig, Jena, 1910, zit. nach Goldschmidt. — *Landois, H.*, Über das Gesetz der Entwicklung der Ge-

schlechter bei den Insekten. Zeitschr. f. wissensch. Zool., 1867, Bd. 17, zit. nach *Lenhossek*. — *Lang, A.*, Geschlechtlich erzeugte Organismen mit ausschließlich väterlichen oder ausschließlich mütterlichen Eigenschaften. Festgabe zur Einweihung der Neubauten der Universität Zürich, 1914. — *Lenhossek*, Das Problem der geschlechtsbestimmenden Ursachen. Fischer, Jena, 1903. — *Lenz, F.*, Siegels Urlaubskinder und die Lösung des Geschlechtsproblems. Münch. med. Wochenschr., 66. Jahrg., S. 188—190, 1919. — Ders., Ergänzende Bemerkungen zur Geschlechtsbestimmung. Münch. med. Wochenschr., 67. Jahrg., S. 162—164, 1920. — Ders., Zur Geschlechtsbestimmung. Münch. med. Wochenschr., 67. Jahrg., S. 543—544, 1920. — *Loeb, J.*, Untersuchungen über künstliche Parthenogenese Barth, Leipzig, 1906. — *Loewe, Fr.*, Über Neu- und Rückbildung im Ovarium vom Maifisch (*Clupea allosa* Cuv.). Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Gesch., Bd. 63, 1903. — *MacLeod, J.*, Recherches sur la structure et le développement de l'appareil reproducteur femelle de Téléostéens. Arch. de Biol., Bd. I, 1881, zit. nach *Böhi*. — *de Majère*, Über getrennte Vererbung der Geschlechter. Biol. Zentralbl., Bd. 30, 1910. — *Mertens, R.*, Scheinbare Geschlechtsverwandlung bei *Xiphophorus Helleri*. Blätter f. Aquarien- u. Terrarienkunde, Bd. 31, Nr. 13, 1920. — *Meyer, R.*, Arch. f. Gyn., 1911, Bd. 93, S. 354; 1913, Bd. 100, S. 1, zit. nach *Nowak*. — *Mitewski, A.*, Verwandlung von Weibchen in Männchen bei Fischen. Berl. Fischmarkt, Jahrg. 1920, Nr. 17 und 18. — *Morgan, Th. H.*, Die stoffliche Grundlage der Vererbung. Bornträger, Berlin, 1921. — *Nachtsheim, H.*, Das Problem der Geschlechtsbestimmung bei *Dinophilus*. Naturf. Ges. Freiburg, Bd. 21, 1914. — Ders., Cytologische und experimentelle Untersuchungen über die Geschlechtsbestimmung bei *Dinophilus apatris*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 93, 1919. — *Nowak, J.*, Die Beziehungen zwischen Ovulation und Menstruation, sowie die daraus sich ergebenden Forderungen über die Altersbestimmung von Feten und über die wahre Schwangerschaftsdauer. Biol. Zentralbl., Bd. 41, 1921. — *Nussbaum, M.*, Zur Differenzierung des Geschlechtes im Tierreich. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 18, 1880. — Ders., Geschlechtsentwicklung bei Polypen. Verhandl. d. Naturf. Vereins zu Bonn, Jahrg. 49, 1892, zit. nach *Lenhossek*. — Ders., Die Entstehung des Geschlechtes bei *Hydatina senta*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 49, S. 227, 1897. — *Okkelberg, P.*, The early history of the germ cells in the brook lamprey *Entosphenus wilderi* (Gage) up to and including the period of sex differentiation. Journ. of Morphology, Vol. 35, No. 1, 1921. — *Pearl u. Salaman*, The relative time of fertilization of the ovum and the sex ratio amongst Jews. Americ. Anthropologist, Vol. 15, p. 668—674, 1914, zit. nach *Siegel*. — *Pflüger, E.*, Versuche der Befruchtung überreifer Eier. Arch. f. d. ges. Physiol. d. Menschen u. d. Wirbeltiere, Bd. 29, Heft 1, 1882. — Ders., Hat die Konzentration des Samens einen Einfluß auf das Geschlecht? Ebenda. — Ders., Über die das Geschlecht bestimmenden Ursachen und die Geschlechtsverhältnisse der Frösche. Ebenda. — *Plehn, M.*, Die Untersuchung von Forelleneiern auf frühen Entwicklungsstadien. Allgemeine Fischereizeitung Nr. 23, 1922. — *Robert, Fr.*, Knabe oder Mädchen nach Wunsch und Wahl der Eltern. Linser Verlag, Berlin-Pankow, 1919. — *Ruge*, Arch. f. Gyn. 1913, Bd. 100, 1918, Bd. 109, S. 302, zit. nach *Nowak*. — *Russo, A.*, Studien über die Bestimmung des weiblichen Geschlechts. Fischer, Jena, 1909. — *Schleip, W.*, Geschlechtsbestimmende Ursachen im Tierreich. Spengel, Erg. u. Fortschr. in der Zool., Bd. 3, 1913. — *Schmitt, F.*, Systematische Darstellung der Doppelbryonen der Salmoniden. Arch. f. Entw.-Mech., Bd. 13, 1901, zit. nach *O. Hertwig*. — Ders., Über die Gastrulation der Doppelbildungen der Forelle mit besonderer Berücksichtigung der Konkreszenztheorie. Verh. d. deutsch. zool. Ges., 1902, zit. nach *O. Hertwig*. — *Schröder*, Arch. f. Gyn., 1914, Bd. 101, S. 1. Zentralbl. f. Gyn.,

- 1918, Nr. 35 und 37, zit. nach Nowak. — *Schultze, O.*, Zur Frage von den geschlechtsbestimmenden Ursachen. Arch. f. mikr. Anat. u. Entw.-Gesch., Bd. 63, Heft 1, 1903. — *Seiler, J.*, Geschlechtschromosomenuntersuchungen an Psychiden. Arch. f. Zellforschung, Bd. 15, 1920, zit. nach *O. Hertwig*. — *Semper*, Das Urogenitalsystem der Plagiostomen und seine Bedeutung für das der übrigen Wirbeltiere. Arb. d. zool. zootom. Inst. in Würzburg II, 1875, zit. nach *Böhl*. — *Siegel, P. W.*, Bedeutung des Kohabitationstermins für die Befruchtungsfähigkeit der Frau und die Geschlechtsbildung der Kinder. — Ders., Zur willkürlichen Geschlechtsbestimmung, beides Münch. med. Wochenschr., 1916. — Ders., Zur Frage der kindlichen Geschlechtsbildung. Ebenda, 1920, S. 430–432. — Ders., Gewollte und ungewollte Schwankungen der weiblichen Fruchtbarkeit. Bedeutung des Kohabitationstermins für die Häufigkeit der Knabengeburten. Springer, Berlin, 1917. — *Steinach, E.*, Verjüngung durch experimentelle Neubelebung der alternden Pubertätsdrüse, Springer, Berlin, 1920. — *Swingle, W. W.*, The germ cells of anurans. Journ. of exper. Zool., Bd. 32, 1921. — *Thuri, M.*, Über das Gesetz der Erzeugung der Geschlechter. Übersetzt von *H. A. Pagensteher*, Leipzig, 1883, zit. nach *Lenhossek*. — *Treat, M.*, Controlling sex in butterflies. Americ. Naturalist, Vol. VII, 1873, zit. nach *Lenhossek*. — *Dies.*, dto. The Journ. of Hygiene and Herald of Health, New York, 1898, No. 5, zit. nach *Lenhossek*. — *Vogt*, Sur l'ovaire des jeunes Vêrons (*Phoxinus varius*). Arch. de Biol., T. III, 1882, p. 241, zit. nach *Jungersen*. — *de Vries, H.*, Gruppenweise Artbildung unter spezieller Berücksichtigung der Gattung *Oenothera*. Bornträger, Berlin, 1913, zit. nach *Lang*. — *Waldeyer*, Die Geschlechtszellen. Handb. d. vergl. u. experim. Entw.-Gesch. d. Wirbeltiere von *O. Hertwig*, Bd. I, 1. Teil, 1906. — *Weber, M.*, Die Abdominalporen der Salmoniden nebst Bemerkungen über die Geschlechtsorgane der Fische. Morphol. Jahrb., Bd. 12, 1887. — *Werber, S. J.*, I. Experimental studies on the origin of monsters. II. Regarding the morphogenesis of duplicities. Journ. of experim. zool., Vol. 24, 1917, S. 409–436. — *Wheeler, W. M.*, The development of the urogenital organs of the Lamprey. Zool. Jahrb. Abt. f. Anat. u. Ontol. d. Tiere, Bd. 13, 1899, zit. nach *Okkelberg*. — *Wilkens, M.*, Untersuchungen über das Geschlechtsverhältnis und die Ursachen der Geschlechtsbildung bei Haustieren. Landw. Jahrb., 1886, Bd. 15, S. 607, zit. nach *Siegel*. — *Witschi, E.*, Experimentelle Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der Keimdrüsen von *Rana temporaria*. Arch. f. mikr. Anat., Bd. 85, 1914. — Ders., Studien über Geschlechtsbestimmung bei Fröschen. Ebenda, Bd. 86, 1914. — *Wohlgemuth, R.*, Die Darmentzündung (Enteritis) der Regenbogenforelle im Frühjahr. Allg. Fischereizeitung, Nr. 6, 1921. — *Woods, F. A.*, Origin migration of the germ-cells in *Acanthias*. Americ. Journ., VI, S. 307–320, zit. nach *Böhl*. — *Zangmeister*, Arch. f. Gyn., Bd. 107, S. 405, 1917, zit. nach *Nowak*.

Determination und Differenzierung.

Von

Ludwig Gräper,

Breslau.

(Eingegangen am 25. Oktober 1922.)

Nach Roux ist Determination eines Geschehens und seiner Produkte die Gesamtheit derjenigen Faktoren, welche die *Art* des Geschehens, also auch seiner Produkte »bestimmen«. Zur Verwirklichung des Bestimmten sind dann noch die indifferenten Realisationsfaktoren, z. B. Wärme, Nahrung (Blut), ev. Licht usw. nötig. Wenn man an dieser Definition festhält, so muß auch wirklich die Gesamtheit der im Organismus liegenden, das Geschehen und die Produkte in ihrer *Art* verursachenden Faktoren vorhanden sein, bevor man von realer Determination des betreffenden Geschehens sprechen kann. Von dem Hinzutreten der Realisationsfaktoren, die auf die Qualität des Geschehens und der Produkte einflußlos sind, wird es abhängen, ob und wann das Geschehen und dessen Endprodukt verwirklicht wird, bzw. ob beim Fehlen eines oder mehrerer Realisationsfaktoren das Geschehen gar nicht eingeleitet wird oder bei einem bestimmten Punkte stehen bleibt. Sind aber alle Determinationsfaktoren vorhanden, so kann natürlich, wenn die Realisationsfaktoren hinzutreten, auch nur das eine bestimmte und kein anderes Geschehen die Folge sein, und das Produkt muß also bei absolut gleichem Determinationskomplex immer absolut dieselben Erscheinungsformen durchlaufen.

Die Determinationsfaktoren können nun sämtlich innerhalb eines entwicklungsfähigen Gebildes einer sog. »Anlage« liegen. Oder aber ein Teil von ihnen liegt außerhalb in anderen zentralen oder peripheren, nah oder fern gelegenen Teilen des Individuums. Im ersten Falle wird sich die Anlage allein durch »Selbstdifferenzierung« (Roux) entwickeln, im zweiten Fall zum Teil durch »abhängige Differenzierung«, sobald die Realisationsfaktoren hinzukommen. Transplantieren wir also eine Anlage, die durch abhängige Differenzierung weiterentwickelt wird, so zerreißen wir den Determinationskomplex. Wir können also nicht mehr davon sprechen, daß in ihr noch die ursprüngliche Determination vorhanden ist. Ganz anders bei Anlagen, die sich durch Selbstdifferenzierung weiterentwickeln. In diesen sind alle Determinationsfaktoren inhärent. Sie bleiben also bei der Abtrennung vollkommen in ihrer Eigenart determiniert, und es kann sich aus ihnen

immer nur ein entsprechendes Produkt entwickeln, sofern Weiterentwicklung stattfindet. Somit kann man nur bei solchen Anlagen, welche sich auch in atypischer Umgebung wenn überhaupt dann unter allen Umständen zu dem typisch beschaffenen bestimmten Gebilde entwickeln, sicher sagen, daß *in ihnen* diese Bildung determiniert sei. Man muß also unterscheiden zwischen inhärentem-unabhängigem oder unabänderlichem und abhängigem Determiniertsein.

Es gibt aber Anlagen, die sich anfangs durch abhängige, später durch Selbstdifferenzierung entwickeln, wie ich dies von jungen Extremitätenknospen der Anuren zeigen konnte, die in jugendlichem Stadium bei aufrechter Transplantation auf die entsprechende Stelle der anderen Seite unter Einfluß der neuen Umgebung ihre Ursprungsseitenqualität in die der Gegenseite verkehren können, wenn sie aber etwas älter waren, das nicht mehr tun, weil dann die Seitenqualität¹⁾ bereits inhärent determiniert ist. Es handelt sich also um einen Übergang von abhängiger Differenzierung in Selbstdifferenzierung, d. h. die ursprünglich in der Umgebung der Anlage liegenden Determinationsfaktoren sind in die Knospe eingewandert oder haben durch ihren Einfluß in der Anlage eine Veränderung hervorgerufen, die als nunmehr in der Anlage inhärenter Faktor die Determination übernimmt. Bei dem Beispiele der Extremitäten konnte ich zeigen, — und das ist wohl auch kaum verwunderlich — daß dieser Faktor nicht blitzartig in voller Wirksamkeit in der Anlage, erscheint, sondern daß er mit anfangs geringer, rasch steigender Wirksamkeit auftritt, derart, daß, wenn man eine Anlage (z. B. linke Extremitätenknospe) in eine indifferente Umgebung verpflanzt (z. B. auf den Kopf), zwar der zunächst noch schwach wirksame Faktor einen Einfluß ausübt (eine linke Extremität erzeugt), daß aber, wenn man dieselbe Anlage in eine andere Umgebung (an die Stelle einer exstirpierten rechten Knospe) verpflanzt, wo starke entgegenwirkende Faktoren vorhanden sind, diese Faktoren das Übergewicht erhalten und den schwachen inhärenten Faktor nicht zur Geltung kommen lassen (aus der linken Knospe wurde in diesem Falle eine rechte Extremität). In dieser Übergangszeit war also die Qualität des Produkts noch nicht völlig determiniert. Man müßte also von einer nicht festen Determination, die sich durch Einwirkung anderer Faktoren noch »umdeterminieren« ließe, im Gegensatz zu einer vollständigen, festen, unabänderlichen sprechen, was dem ursprünglichen Sinne der Definition nicht ganz entsprechen würde. Es wäre wohl besser, für den Übergangszustand

¹⁾ Der leichteren Verständlichkeit wegen gebrauche ich hier diesen ungenauen Ausdruck. Ich konnte in meiner 1. und 2. Mitteilung über Extremitätentransplantationen an Anuren zeigen, daß zunächst nur eine Querschnittsdetermination vorliegt und erst durch Hinzukommen einer Determination der Proximal-distal-Polarität die Seitenqualität bestimmt wird.

einen neuen Begriff einzuführen, für den ich den Ausdruck »Institution« d. h. »Einleitung« der Determination vorschlagen möchte.

Im Gegensatz dazu könnte man dann bei der festen Bestimmung von einer endgültigen »Definition« oder »Destination« reden. In einer jungen Extremitätenknospe ist die Seitenqualität (richtiger der Querschnitt) zwar »instituiert«, eingeleitet, aber noch nicht fest »definiert«, bestimmt, was erst später geschieht.

Wenn nun also die Determination eine Einschränkung der Potenz in diesem Falle mit sich bringt, denn die Anlage, die im konkreten Falle im jungen Stadium imstande war, bei aufrechter Transplantation sowohl eine rechte wie linke Extremität zu bilden, kann jetzt nur noch eine linke bilden, so wäre es lohnend, einmal zu untersuchen, ob und inwieweit überhaupt jede Determination eine Beschränkung der Potenz mit sich bringt.

Diese Frage ist keineswegs überflüssig, denn manchen scheinen bei oberflächlicher Betrachtung die Potenzen sich mit zunehmender Differenzierung zu vermehren, weil sie Potenz mit Determinationsfaktor mehr oder weniger gleichsetzten. Daß das aber nicht zutrifft, kann man schon daraus ersehen, daß im befruchteten Ei und in den ersten Blastomeren die Potenzen zur Bildung sämtlicher Organe der betreffenden Spezies mit Ausnahme der Generationsorgane des einen Geschlechts vorhanden sind. Wenn nun eine Determination eines bestimmten Keimblattes in einzelnen Blastomeren stattfindet, so heißt das weiter nichts, als daß die ursprüngliche Totipoteuz dahin eingeschränkt wird, daß von diesen betreffenden Zellen eben nur noch Organe des betreffenden Keimblattes gebildet werden können und zwar zunächst von jeder der Zellen mit einheitlicher Keimblatt-determination alle Organe des betreffenden Keimblattes. Bei der Betrachtung in diesem Sinne erweist sich der Ausdruck »Determinatio« als besonders glücklich gewählt: im Französischen hat er die Bedeutung, in der wir ihn bisher gewöhnlich gebraucht haben, nämlich »Bestimmung«. Im Lateinischen steht aber die Grundbedeutung des Wortes terminus = Grenze, Schranke im Vordergrund, so daß das Wort hier »Abgrenzung, Beschränkung« heißt. Es wird also bei einer Determination innerhalb der Menge der Potenzen eine Grenze gezogen, die einem bestimmten Teile bestimmte Potenzen zuweist. Nur so ist eine geordnete Entwicklung denkbar. Ein befruchtetes Ei, in dem alle Potenzen enthalten sind, kann zunächst nur ganz wenige, gewissermaßen übergeordnete, realisieren. Nur die streng geordnete Aufeinanderfolge der Determinationen und Differenzierungen kann eine Entwicklung zu einem hochdifferenzierten Individuum gewährleisten. Es können also vom eben befruchteten Ei, selbst wenn alle Realisationsfaktoren vorhanden wären, trotz der hierzu ebenfalls vorhandenen Potenz beispielsweise keine

Extremitäten gebildet werden, denn der hierzu nötige Determinationskomplex fehlt. Dieser hat zur Vorbedingung eine bestimmte vorhergehende Differenzierung und wird durch Potenzverlust hervorgerufen. Potenzverlust ist also der Anlaß zum Hervortreten eines Determinationsfaktors. Das würde heißen, daß in einer Anlage mit primitiverer Determination die verschiedenen Potenzen im Gleichgewicht, also gewissermaßen latent z. Z. unwirksam sind. Wird dieses Gleichgewicht gestört durch Abschwächung oder Verlust einer Potenz, so bilden die übrigen einen neuen Determinationskomplex durch Hervortreten früher latenter Potenzen d. h., wie wir uns gewöhnlich ausdrücken, durch Auftreten eines neuen Faktors. Und wenn ich oben von dem Einwandern eines Faktors in eine Anlage gesprochen habe, so bedeutet das weiter nichts, als eine von der Umgebung in die Anlage hinein fortschreitende, unter Umständen zum völligen Verlust führende Abschwächung einer Potenz. Dabei stelle ich mir die Potenzen nicht als irgendwelche geheimnisvolle Kräfte vor, sondern sie müssen irgendwie substantiiert sein, sei es in Form von Seitenketten am Eiweißmolekül, sei es durch die Gruppierung vieler Moleküle in bestimmter stereometrischer Weise zu der kleinsten biologischen Einheit. Das komplizierteste derartige Konglomerat würde man dann in den biologischen Einheiten des Eies zu suchen haben. Der Verlust von Potenzen und die Determination würde dann durch den Verlust von Seitenketten bzw. den Verbrauch bestimmt gelagerter Eiweißmoleküle im Elementarorganismus dargestellt werden. Natürlich sind das nur bildliche Vorstellungen, die nicht den Anspruch einer Hypothese zu sein, machen können, da wir z. Z. noch völlig im Finsternen tappen bezüglich der Größenordnung, in der wir die Substanziierung der Potenzen zu suchen haben. Zwischen Eiweißmolekül und Chromosom (Diminutionstheorie) ist der Spielraum gar zu groß! Um eine Potenzverminderung muß es sich aber bei der Entwicklung auf alle Fälle handeln. Das hat *Barfurth* schon richtig empfunden, indem er die Ausdrücke Totipotenz, Multipotenz, Unipotenz prägte, doch scheinen mir speziell die Grenzbegriffe zu sehr fixiert.

Dabei braucht die Determination keineswegs mit gleichzeitiger Differenzierung einherzugehen, denn während für viele Organe die Determinierung einer wahrnehmbaren Differenzierung vorausgeht, haben *Spemann* und *Mangolds* glänzende Versuche gezeigt, daß äußerlich als präsumtive Epidermis oder Medullarplatte bereits differenzierte Partien in die Nähe des Blastoporusrandes transplantiert, mit eingestülpt und unter dem Einfluß der Umgebung beispielsweise in Mesoderm verwandelt werden können. Obwohl man also erkennen kann, daß im typischen, normalen Geschehen ein Teil des Keimes zu Epidermis bzw. Medullarplatte wird, obwohl also dieser Teil die typischen Merk-

male der Differenzierung zu äußerem Keimblatt enthält, besitzt er doch noch die Potenzen zur Bildung von Organen des mittleren. Trotz der Differenzierung des äußeren Keimblattes ist eine Determination desselben in **strengem** Sinne, also eine Destination, noch nicht eingetreten. Diese tritt aber wenig später ein und ist voraussichtlich dadurch gekennzeichnet, daß ein nunmehr transplantiertes Stück nicht mehr Organe eines anderen Keimblattes bilden kann. Es gehen also dem äußeren Keimblatt die Potenzen verloren. Und somit geht auch hier die Keimblattdestination oder besser »Destination« mit einer Beschränkung der Potenzen einher. Weitere Einschränkungen der Potenzen erfolgen im äußeren Keimblatt, wenn es nicht mehr möglich ist, aus präsumtiver Epidermis durch Transplantation in die Gegend der Medullarplatte Teile des Nervensystems zu machen und umgekehrt. Dabei würde eine Blastengruppendetermination anzunehmen sein, wenn in dieser Periode sich beispielsweise noch Augenanlage und Medullarrohranlage gegenseitig vertauschen ließen. Aber auch dies wird bald durch Potenzbeschränkung unmöglich, und dann haben wir eine Blastemdestination verwirklicht. Ähnlich werden die Verhältnisse im mittleren und inneren Keimblatt liegen, nur daß die Dinge hier schwerer experimentell zu analysieren sind. In jedem Blastem finden nun weitere Potenzeinschränkungen statt, z. B. in der Augenanlage, bei der Determination der Retina und des Pigmentblattes und dem Verluste der Möglichkeit des regenerativen Ersatzes der Linse. Bei den Extremitäten geschieht die Determination offenbar in den drei Dimensionen zeitlich getrennt, so daß zuerst die Vorn-hinten-Achse determiniert wird (*Harrison*). (In dieser Periode kann bei aufrechter und reverser Transplantation von der Anlage eine rechte, eine linke oder eine doppelte Extremität erzeugt werden.) Bei weiterer Entwicklung wird durch Hinzutreten der Determination der Dorsal-Ventralachse der Querschnitt destiniert und damit geht die Potenz, bei aufrechter Transplantation eine rechte oder linke Extremität zu liefern, verloren. Dagegen kann die Seitenqualität immer noch bei reverser Transplantation umgekehrt werden, bis die Determination der dritten (proximo-distalen) Achse auch diese Potenz beschränkt in einer Weise, wie ich das in einer früheren Untersuchung dargelegt habe.

Die Beschränkung der Potenzen geht immer weiter. Beim Nervensystem der Wirbeltiere erreicht sie die höchste bekannte Stufe, indem eine Zellvermehrung von einer gewissen Entwicklungsstufe ab unmöglich ist, ohne daß dabei jegliche Regenerationsfähigkeit aufzuhören braucht. (Sollte nicht der Alterstod durch eine weitere [absolute] Destination, d. h. einen Verlust sämtlicher Entwicklungspotenzen, zu denen ja wohl auch als eine Art Regenerationsfähigkeit die Fähigkeit zur Assimilation gehört, in lebenswichtigen Teilen herbeigeführt werden?)

Somit handelt es sich bei der Determination stets um die Beschränkung vorhandener, niemals um die Erwerbung neuer Potenzen (dagegen neuer Faktoren)! Und zwar tritt diese Beschränkung unter dem Einflusse der Nachbarschaft (abhängige Determinierung) auf, wobei sowohl die Umgebung auf eine Anlage als auch diese auf jene determinierend wirken kann.

Ist nun diese Anschauung mit der Tatsache vereinbar, daß sich beispielsweise nach dem Abtrennen einer Amphibienextremität ein Regenerationsblastem bildet, das neue Potenzen zu haben scheint? Ja, denn gerade das illustriert am besten den Vorgang der Determination. Es ist längst bekannt, daß die neuen Skelettstücke nicht aus dem Knorpel der erhalten gebliebenen hervorgehen, sondern die ganze Wundfläche überzieht sich mit einem Blastemmaterial, das mit allen in ihm schlummernden Potenzen in der unversehrten Extremität schon vorhanden war, wenn auch in geringer Menge. Es wird nun eingewendet werden, warum dieses Material, in dem alle Potenzen zur Bildung von — sagen wir hinteren — Extremitäten vorhanden waren, vorher diese Fähigkeiten nicht realisiert habe. Nun eben weil es durch Nichthinzutreten der Realisationsfaktoren keine Differenzierung erfahren und in der Folge keine seiner Potenzen verloren hat. Man muß sich an die zunächst etwas befremdliche Vorstellung gewöhnen, daß ein Gewebe um so indifferenter aussieht, je mehr Potenzen in ihm vorhanden sind. Jede Determinierung, der meist eine Differenzierung folgt, ist eben untrennbar mit Potenzverlust verbunden. Umgekehrt ist ein hochdifferenziertes Gewebe äußerst arm an Entwicklungspotenzen.

An dem Beispiel des Regenerationsblastems können wir auch erkennen, daß der Einfluß der Umgebung die Potenzeinschränkung bewirkt: Knorpel bildet sich aus dem Blastemgewebe dort, wo Knorpel oder Knochen im Stumpf benachbart sind. Ähnlich ist es bei den anderen Geweben. Der Querschnitt ist es also, auf dem sich das Regenerat aufbaut. (Dabei ist es gar nicht nötig, daß an diesem Querschnitt die Gewebe bereits differenziert sind; es genügt, wenn sie determiniert sind, wie ich in meiner Abhandlung über die reversen Transplantationen zeigen konnte.) Wo ein solcher Querschnitt fehlt, kann extremitätenbildendes Material in beliebiger Menge vorhanden sein, es wird nicht zur Determinierung und nicht zur Entwicklung überzähliger Glieder kommen. Andererseits wird jeder Querschnitt die Möglichkeit zu einer Regeneration bzw. Superregeneration geben, ohne daß wir die Annahme einer rätselhaften Verjüngung durch den Schnitt machen müßten. Meine Beobachtung, daß auch an den proximalen Schnittflächen eines Gliedes sich die Regeneration in distalem Sinne vollzieht, könnte zunächst die Vermutung nahe legen, daß die

Determination nur durch die Querschnittsebene selbst, also durch die absolut nächste Nachbarschaft bewirkt werde; dem stehen aber gewisse andere Beobachtungen gegenüber. Einmal fand ich, daß das Entstehen sekundärer Regenerate regelmäßig davon abhängig ist, ob sich auf der betreffenden Körperseite primär eine seitenverkehrte oder seitenrichtige Extremität entwickelt. Ferner haben Versuche, die ich begonnen habe und die mein Schüler *Puppe* weitergeführt hat, gezeigt, daß durch Querschnitte in die Extremität hinein Superregenerationen sehr viel leichter erzeugt werden können, wenn man gleichzeitig auch das periphere Ende der Extremität abschneidet. Das beweist, daß fernwirkende Einflüsse nicht nur von proximalen Teilen auf distale, sondern auch solche distaler Teile auf proximale vorhanden sind. Es bestehen Bindungen ähnlich denen bei chemischen Körpern, durch deren Lösung die Anfügung neuer Endglieder ermöglicht wird. (In einem Vortrage habe ich einmal zum Vergleich das Bild der magnetischen Kraftlinien gebraucht.)

Wir haben im Vorstehenden also gesehen, daß eine Determination unter dem Einfluß näherer oder fernerer Umgebung eines Gewebes stattfindet und ohne Potenzverluste nicht denkbar ist. Nun läuft neben der Determination die Differenzierung, und es fragt sich, ob für sie ähnliches gilt. Insoweit die Differenzierung identisch ist mit dem durch den Komplex der Determinationsfaktoren bestimmten Geschehen, ist diese Frage ohne weiteres zu bejahen, und wir können schließen, daß die Differenzierung ein Zeichen ist für mittelbar stattgehabte Potenzverluste.

Das gilt aber nur für die Differenzierungen, die einen völlig festen Determinationskomplex als Ursache haben, die also nach meiner Ausdrucksweise »definiert« oder »destiniert« sind und die *Hatschek* virtuelle Differenzierungen (nicht umdifferenzierbare), genannt hat. Alle virtuellen Differenzierungen sind zugleich Selbstdifferenzierungen, da sie sich transplantiert (wenn überhaupt) unabhängig von der Umgebung in bestimmter Weise entwickeln, aber nicht umgekehrt, da sich instituierte Anlagen zwar in normaler oder indifferenter Umgebung durch Selbstdifferenzierung in bestimmter Weise entwickeln, aber in übermächtiger Umgebung um- oder rückdifferenzieren können. Solche Anlagen zeigen aktuelle Differenzierung *Hatscheks* [um- und rückdifferenzierbare¹⁾] bei deren vorausgehender Instituierung der Verlust einer Potenz zwar eingeleitet, aber noch nicht vollständig war.

Die Ausdrücke *Hatscheks* können als solche übernommen werden, aber seine Definition ist verwirrend. Nach ihm bewirkt virtuelle Differenzierung eine Veränderung der Potenz. Das ist unrichtig oder zum

¹⁾ *Hatschek*, Lehrbuch d. Zoologie. Jena 1888.

mindesten ungenau. Eine Veränderung der Potenz und zwar immer im Sinne einer Verminderung (wenn auch zum Teil einer so schwachen einer Potenz, daß das Überwiegen einer anderen und damit das Auftreten eines anderen Faktors rückgängig gemacht werden kann) findet nur bei der Determination, nie bei der Differenzierung statt, die ausschließlich ein sich aus der Determination ergebendes und durch die Realisationsfaktoren verwirklichtes Geschehen ist. Andererseits werden durch die Differenzierung neue Faktoren geschaffen, die ihrerseits eine weitere Determination, d. h. eine weitergehende Potenzverminderung herbeiführen können (*Roux*s sekundäre, tertiäre usw. Determinationsfaktoren.) Ein solcher Fall ist besonders dann realisiert, wenn eine sich bisher abhängig differenzierende Anlage die Fähigkeit zur Selbstdifferenzierung erwirbt.

Die viel gebrauchten Begriffe *Driesch*s »prospektive Potenz« und »prospektive Bedeutung« stehen natürlich auch in ganz bestimmtem Verhältnis zur Determination und Differenzierung. Da sie trotz weiter Verbreitung nicht allgemein in dem ursprünglich von *Driesch* gemeinten Sinne gebraucht werden, muß gesagt werden, welchen Sinn sie haben sollen, wobei ich mich der *Roux*schen Kritik durchaus anschließe. Die prospektive Potenz eines Teiles umfaßt alles, zu dessen Bildung der Teil im typischen und atypischen Geschehen durch abhängige oder Selbstdifferenzierung imstande ist, also die Gesamtmöglichkeit an Differenzierungsverwendung. *Roux* sagt richtig, daß das nicht alle Potenzen umfaßt, sondern daß zum Gesamtentwicklungsvermögen *Roux*s auch die Differenzierungsleistungen in bezug auf andere Teile gehören. *Roux* wendet sich auch gegen das »prospektiv« und sagt richtig, daß das Atypische sicher nicht vorhergesehen sein könne. Trotz *Driesch*s Entelechie möchte ich glauben, daß *Driesch* »prospektiv« in diesem Zusammenhang nicht in dem Sinne von »vorhergesehenem«, sondern einfach im Sinne von »zeitlich nachfolgend«, »zukünftig« gebraucht hat. Dann ist das Adjektiv aber überflüssig, denn jedem Geschehen muß die Potenz hierzu vorausgehen.

Der Ausdruck »prospektive Bedeutung« umfaßt dagegen das, was im konkreten (typischen oder atypischen) Einzelfalle aus dem Teile sich entwickelt. Das ist natürlich noch viel weniger vorausgesehen denn jede Änderung eines Faktors wird eben eine Änderung des Geschehens zur Folge haben und man muß die Tatsache der Differenzierung in jedem Falle abwarten, ehe man sagen kann, jenes früher beobachtete Gebilde hatte die prospektive Bedeutung dieses Differenzierungsergebnisses. Der Ausdruck »prospektive Bedeutung« ist also retrospektiv und hat nur didaktischen Wert, wenn man eine Reihe in einem konkreten Falle wirklich durchlaufener Entwicklungsstadien vor sich hat und vom Standpunkte eines früheren Stadiums auf die Reihe

der folgenden blickt. Diese Reihe späterer Entwicklungsstufen ist also die prospektive Bedeutung und die schrittweise Beschränkung dieser Reihe ist identisch mit der konkreten Entwicklung, mit der Differenzierung. Wenn wir also wegen ihrer weiten Verbreitung die *Driesch'schen* Ausdrücke stehen lassen wollen, so können wir definieren: *Determination ist Beschränkung der prospektiven Potenz, Differenzierung Beschränkung der prospektiven Bedeutung.*

Gewiß wäre es auch lohnend, einmal zu untersuchen, inwieweit Determination gleich Neoevolution des Genotypus, Differenzierung gleich Neopigenese des Phänotypus ist, wenn man unter Genotypus die Gesamtheit der Gene, die in letzter Linie doch Potenzen sind, und unter Phänotypus die konsekutive Erscheinungsform im Individuum, die fast identisch ist mit den Differenzierungen, versteht. Natürlich sind beide Typen komplexe Begriffe, die das ganze Individuum betrachten, während Determination und Differenzierung sich mehr den Teilen zuwenden.

Es entsteht nun die Frage, ob, wenn Determination stets Potenzverlust bedeutet, auch jeder Potenzverlust eine Determinierung mit sich bringt. Das ist zweifellos der Fall, denn beim Potenzverlust muß auch der Determinationskomplex verändert werden, und jede Veränderung desselben ergibt eine weitergehende Determinierung. Diese braucht dabei nicht so weit zu gehen, daß der Ablauf des wirklichen Geschehens (die Differenzierung) eine Änderung erfährt, denn die neue Determinierung kann ja eine Potenz betreffen, die niemals realisiert worden wäre, z. B. die der Linsenregeneration.

Somit ist auch der Tod eines Elementarorganismus, weil eine Folge von Potenzverlusten, eine durch eine Determination bewirkte Differenzierung. Diese Anschauung läßt den Tod nicht als ein unerhört einschneidendes, den Lebensfaden scheinbar willkürlich durchtrennendes Ereignis, sondern als das Endglied einer harmonischen Entwicklungsreihe erkennen.

Auch für die Erkenntnis des Wesens der Geschwülste scheinen mir die hier entwickelten Gedanken förderlich zu sein. Die erste Carcinomzelle hat nicht etwa die Fähigkeit zum profusen, hemmungslosen Wachstum neu erworben, die Potenz dazu hatten alle ihre Vorgänger auch, konnten sie nur nicht realisieren, weil sie gleichzeitig noch andere Potenzen enthielten, deren Gegenwart ihre Realisierung verhinderte, auch wenn die Realisationsfaktoren sonst vorhanden gewesen wären. Es handelt sich also beim Carcinom nicht um niedrig, sondern um hochdifferenzierte Zellen.

In der nebenstehenden Übersicht habe ich versucht, die oben behandelten Begriffe in ihren gegenseitigen Beziehungen anschaulich darzustellen. Dabei habe ich auch zum Ausdruck gebracht, daß man

| Potenzverlust | Resultat | Vorgang und Resultat |
|---|--|---|
| Determinierung (Beschränkung der prospektiven Potenz) | Determinations- komplex | + Realisationsfaktoren = Differenzierung (Beschränkung der prospektiven Bedeutung) |
| Instituitierung (eingeleitete Deter- minierung) | Institutionskomplex (nicht völlig feste, unstimmbare Deter- mination) | + Realisationsfaktoren = aktuelle Differenzierung (um- oder rück- differenzierungsfähig) |
| Destination oder Definition (feste Determinierung) | Destinations- oder Definitions-komplex (feste Determination) | + Realisationsfaktoren = virtuelle Differenzierung (nicht um- oder rück- differenzierungsfähig) |
| Neoevolution des Genotypus | Lokalisation der Gene in ver- schiedenen Regionen des Individuums | + Realisationsfaktoren = Neoeypenese des Phänotypus |

 Bereich der abhängigen
Differenzierung

 Bereich der
Selbstdifferenzierung

Determinierung von Determination zu unterscheiden hat, indem das erstere den Vorgang des Potenzverlustes, das letztere das Resultat desselben, den Determinationskomplex, bezeichnet. Ähnlich ist es auch bei der Differenzierung, wo eigentlich zwischen Differenzierungsvorgang und Differenzierungsergebnis unterschieden werden müßte. Trotzdem habe ich hier von der Teilung der Spalte abgesehen, weil der Sprachgebrauch unter Differenzierung eben beides versteht und bei den vorliegenden Erörterungen dieser Unterschied keine Rolle spielt. Absichtlich habe ich auch, um die Darstellung nicht zu komplizieren, von der Unterscheidung in »typisch« und »atypisch«, die sich bei anderer Betrachtungsweise nötig macht, abgesehen und versucht die Erörterungen so zu gestalten, daß sie sowohl für typisches wie für atypisches Geschehen gelten. Ähnliches gilt für die *Rousschen* Ausdrücke »partielle« und »universelle Totaldetermination«, »Totipotenz« usw., die ja an sich völlig geklärt sind.

Der Zweck der vorliegenden Auseinandersetzungen ist in erster Linie der, den Begriff der Determination zu klären und darauf aufmerksam zu machen, daß bei entwicklungsmechanischen Versuchen zur Klärung der Potenzverhältnisse entweder nach der ersten, noch veränderlichen Einleitung einer Determination, also der Institution, gesucht werden kann, oder aber nach der Grenze, wo die betreffende Potenz endgültig verloren ist, wo also die Destination eingetreten ist. Das Intervall zwischen beiden Grenzen kann sehr bedeutend sein. So hat z. B. *Harrison* erwiesen, daß die Vorn-hinten-Richtung in der Extremitätenanlage bereits lange vor ihrem Erscheinen instituiert wird und die Dorsal-ventral-Richtung etwas später. Durch Ausnutzung dieser Tatsachen konnte er in einem gewissen Prozentsatz Extremitäten von beliebiger Seitenqualität erzeugen. Damit ist aber durchaus nicht gesagt, daß beide Richtungen und damit der Querschnitt nun völlig fest determiniert, also destiniert seien. Das zeigen meine Versuche, die ich im letzten Jahre mit weit günstigerem Resultate wiederholt habe und die, — allerdings an ganz anderem Material — die Umdeterminierbarkeit der bereits instituierten Anlage in einem sehr viel älteren Stadium erwiesen. Wenn also in einer Diskussionsbemerkung *Braus* eine Unvereinbarkeit unserer Resultate annehmen zu müssen glaubte, so wird er — ganz abgesehen von der Materialdifferenz — sich jetzt hoffentlich der gegenwärtigen Darlegung des Determinationsbegriffes, die ich schon damals, wenn auch weniger deutlich, aussprach, nicht verschließen und anerkennen, daß beide Resultate durchaus miteinander vereinbar sind.

Der Einfluß der Nebennierenrinde auf das Wachstum und die Fruchtbarkeit von *Daphnia pulex*¹⁾.

Von

Dr. M. A. van Herwerden.

(Aus dem embryologisch-histologischen Laboratorium der Universität Utrecht.)

Mit 29 Textabbildungen.

(Eingegangen am 27. Oktober 1922.)

Während einer Untersuchung über die zyklische Fortpflanzung von *Daphnia pulex* kam ich zu der zufälligen Beobachtung, daß die Rinde der Nebenniere des Rindes die allgemeine Gesundheit, das Wachstum, die Fruchtbarkeit in bedeutender Weise fördern. Überdem werden viele schädlichen Umstände, welche sonst die Kulturen schnell zugrunde richten, zeitenlang ohne Nachteil vertragen, falls man dem Kulturwasser ungefähr 1 mg getrocknete Nebennierenrinde zusetzt. Mehrzellige Fadenalgen sind z. B. sehr nachteilig für die von mir kultivierten Daphnien; eine Depression tritt ein und ohne Erneuerung des Kulturwassers sterben die Tiere ab. Ein Zusatz von ± 1 mg Nebennierenrinde genügt, damit die Daphnien in einem Konvolut von langfädigen Algen längere Zeit (oft monatelang ohne Erneuerung der Kultur) am Leben bleiben. Sogar Pilzmycelia, welche in der Kontrollkultur die Daphnien bald zugrunde richten, werden in der Nebennierenrindekultur, auch wenn die Pilze üppig wachsen, gut vertragen. Eine Daphnienkultur, welcher jede zweite Woche 1 mg getrocknete Nebennierenrinde zugesetzt wurde, hat sich z. B. vom 25. Februar bis 12. Juli, d. i. also fast 5 Monate, ohne daß die Gläser gereinigt wurden, in vollständiger Gesundheit erhalten. Vom 18. März bis 18. April hatte gar kein Wasserzusatz stattgefunden. Die stark vermehrte Daphnienkolonie lebte in einem Konvolut von mehrzelligen Algen, teilweise von einer Pilzschicht bedeckt. Eine Kontrollkultur meiner Daphnien hätte dies kaum eine Woche ausgehalten. Ich habe öfters während der Sommerferien die ungenügend gereinigte Daphnienkolonie, welche sich jetzt schon seit Januar 1910 in meinem Laboratoriumszimmer fortpflanzt, durch diesen Nebennierenrindezusatz am Leben gehalten.

¹⁾ Eine vorläufige Mitteilung ist erschienen in den »Verslagen der Koninklijke Academie van Wetenschappen«, T. XXIX, S. 1196, und im Biologischen Zentralblatt, Bd. 42, 1922, S. 109.

Auch die einzelnen Individuen können solche schädlichen Umstände nach Nebennierenrindezusatz gut vertragen. So ist z. B. eine am 15. Oktober geborene Daphnie, an diesem Tag in 10 ccm Grubenwasser mit 1 mg getrockneter Nebennierenrinde gebracht, ohne Erneuerung des Kulturwassers (es wurde bloß am 5. Dezember noch 1 mg getrocknete Rinde zugesetzt) bis 12. Dezember — also mehr als 2 Monate — im stark eingedampften Medium zwischen einem Konvolut mehrzelliger Algen und Pilze in vollkommener Gesundheit am Leben geblieben. Sie hatte derzeit verschiedene Bruten abgelegt. Als die Kultur am 5. Dezember geendet wurde, war diese Daphnie noch lebensfrisch.

Ursprünglich wegen des Studiums der zyklischen Fortpflanzung in Kultur genommen¹⁾, hat diese Daphnienkolonie, deren Stamm noch immer beibehalten wird, sich als ein vortreffliches Material für vergleichend-physiologische Untersuchungen bewährt; besonders deswegen, weil immer Geschwister aus derselben Brut während des ganzen Jahres zur Verfügung stehen. Weil jede heterogene Mischung während der vieljährigen parthenogenetischen Fortpflanzung im Laboratorium vollkommen ausgeschlossen ist, darf man theoretisch erwarten, daß es sich hier in jeder Brut um genotypisch identische Schwestern handelt²⁾.

Als sich durch Vorversuche erwiesen hatte, daß der Zusatz von getrockneter Nebennierenrinde Wachstum und Fortpflanzung in einer Weise fördert, wie es weder der Zusatz von getrocknetem Nebennierenmark, noch Hypophysis oder Thyreoidea in ähnlichen Quantitäten zu tun vermögen, habe ich in mehr methodischer Weise die Versuche über die Nebennierenwirkung durchgeführt.

Bereitung des Materials.

Die Nebennieren wurden frisch vom Schlachthaus bezogen, von der Fettkapsel befreit und die Rinde sorgfältig vom Mark abpräpariert. Es ist viel schwerer, das Mark frei von Rindensubstanz zu halten, als umgekehrt. Das feinerhackte Präparat wurde im Brutofen bei einer Temperatur von 60° während 24 Stunden getrocknet und für die meisten Versuche ± 1 mg der getrockneten Substanz gebraucht. Außer der getrockneten Substanz sind auch Extrakte derselben für die Versuche benutzt. Es wurde u. a. 0,5 g getrocknete

¹⁾ Untersuchungen über die parthenogenetische und geschlechtliche Fortpflanzung von *Daphnia pulex*. »Verhandelingen der Koninklijke Academie van Wetenschappen te Amsterdam«, T. XX, No. 3.

²⁾ Wie man weiter sehen wird, schreiten die parthenogenetischen Weibchen in meinen Kulturen bisweilen zur Ephippialbildung. Es werden dann statt ausgetragener junger Tiere Chitinkapseln abgelegt, welche — falls Männchen anwesend sind — befruchtete Eier enthalten, sonst aber — was öfters der Fall ist — leer abgesetzt werden. Nach solcher Bildung von Ephippia setzen die meisten Weibchen ihre parthenogenetische Eibildung fort.

Nebennierenrinde mit 50 ccm destillierten Wassers versetzt und während drei Stunden bei einer Temperatur von 110° – 120° im Autoklav erhitzt, ohne ihre Wirksamkeit zu verlieren. Dieser Umstand wird bei der näheren Analyse der wirksamen Substanz von Bedeutung sein. Auch Alkohol-, sowie Alkohol-Ätherextrakte sind geprüft. Zur Extraktion wurde entweder die erwähnte getrocknete Substanz oder das eingedampfte, getrocknete Autoklavextrakt benutzt und Alkohol und Äther in vacuo entfernt. Eine vollständige Entziehung der Lipide wurde von Frau Dr. *M. Stenvers* im hiesigen physiologisch-chemischen Laboratorium durchgeführt, in der folgenden Weise:

Die zerhackte, während 24 Stunden bei einer Temperatur von 60° getrocknete Nebennierenrinde wurde fein gepulvert und mit Äther, später mit absolutem Alkohol im Soxhletapparat extrahiert und die lipoidhaltende Flüssigkeit in vacuo abdestilliert. Von 2,85 g getrockneter Substanz wurden in der Weise 2,3 g lipoidfreie Substanz erhalten. Auch diese wurde für verschiedene Versuche benutzt, ebenso wie das in vacuo eingeeingte Lipoid. Als im Verlauf meiner Arbeit die Möglichkeit einer Vitaminwirkung in Überlegung kam, hat Frau Dr. *Stenvers* im physiologisch-chemischen Laboratorium die getrocknete, feingepulverte Nebennierenrinde während 4 Stunden in einem Luftstrom auf 110° – 130° erhitzt. Auch dieses Präparat ist in verschiedenen Versuchen benutzt.

Weiter habe ich 10 mg der getrockneten Nebennierenrinde in einer Porzellanschale erhitzt und bis zur Vernichtung der organischen Substanz geglüht. Es wurde der überbleibende Teil mit 10 ccm Grubenwasser versetzt und nach 24 Stunden filtriert. Von diesem Filtrat ist 1 ccm dem Kulturglas (auf 10–15 ccm Grubenwasser) zugesetzt, um eine eventuelle Wirksamkeit der anorganischen Substanzen der Nebennierenrinde zu erforschen.

Der größte Teil der Versuche ist mit den Nebennieren des Rindes, einige sind aber mit denjenigen des Schweines oder des Meerschweinchens ausgeführt; die letzteren werden bei der Beschreibung spezielle Erwähnung finden. Als es sich im letztem Winter ergab, daß die Nebennierenrinde des schwangeren Rindes regelmäßig wirksamer war als diejenige des nicht schwangeren, habe ich auch dieses näher geprüft, wie man in der Beschreibung der Versuche angegeben findet. Natürlich wurde darauf geachtet, bloß Organe gesunder Tiere aus dem Schlachthaus zu beziehen.

Beschreibung der Versuche.

Die seit 1910 im Laboratorium sich fortpflanzenden Daphnien werden in kleinen Gläsern in 15–20 ccm filtrierten Grubenwassers mit Zusatz von einzelligen grünen Algen bei Zimmertemperatur kul-

tiviert. Falls die Gläser nicht jede 2 Wochen gereinigt werden, tritt bald eine Depression ein, meistens infolge des Wachstums mehrzelliger Fadenalgen, welche, wie gesagt, schlecht von den Daphnien vertragen werden.

Bei allen Versuchen mit Organzusatz wurden immer Junge aus derselben Brut gewählt, welche bei der Geburt fast ausnahmslos dieselbe Dimension haben. Vor jedem Versuch werden diese Geschwister unter dem Mikroskop mit dem Okularmikrometer gemessen, namentlich der Abstand zwischen Spinaansatz und Scheitel der Tiere. Die Spina, welche bei jeder Schalenwechslung ihre Gestalt ändern kann und während des Körperwachstums meistens einbüßt, wird deshalb nie mitgemessen.

Die Länge bei der Geburt wechselt zwischen 3,5 und 4,5 Okularmikrometerteilstrichen; sie ist, wie gesagt, jedoch für die Geschwister derselben Brut fast immer gleich.

Bei jedem Versuch werden die neugeborenen Jungen über zwei oder mehrere Gläser verteilt, von welchen eines als Kontrollglas dienen muß, während den anderen die getrocknete Substanz oder das wässrige Extrakt zugesetzt wird. Falls der Zusatz mehr als ein Tropfen beträgt, wird immer bei der Kontrollkultur eine ähnliche Quantität Wasser zugefügt. Für übereinstimmende Beleuchtung, Temperatur und Algengehalt während des Versuchs wird sorgfältig gewacht. Was den letzteren betrifft, muß man bei längeren Versuchen immer für ein Übermaß von Algen sorgen, weil auf die Dauer Nebennierenrindezusatz das Wachstum der Algen bedeutend fördern kann. Die Gläser werden bei Zimmertemperatur oder — im Winter — auf einem leicht erwärmten Brutofen gehalten.

Aus den zahlreichen, während zweier Jahre angestellten Versuchen werde ich eine Auswahl treffen und deren Beschreibung mit den begleitenden Kurven wiedergeben. Es handelt sich also einerseits um eine Beförderung des Wachstums, anderseits um eine Förderung der allgemeinen Fruchtbarkeit. Bloß in längerdauerenden Versuchen spielt der Widerstand schädlichen Einflüssen gegenüber eine merkbare Rolle; in kürzeren Versuchen wird dieser Faktor ausfallen. Ein deutlicher Einfluß auf die zyklische Fortpflanzung (Abwechslung parthenogener Eier und Ephippialeier) ist in meinen Versuchen nicht wahrnehmbar. *Es werden ausschließlich »Weibchen« aus derselben Brut gewählt¹⁾.*

¹⁾ Außer im Sommer kann es immer vorkommen, daß ein oder mehrere Weibchen derselben Brut — auch ohne befruchtet zu sein — zur Bildung von Ephippia schreiten. Man wird solche Fälle in einem kleinen Teil der Versuchsbeschreibungen antreffen.

Versuch 1. (Kurve I.)

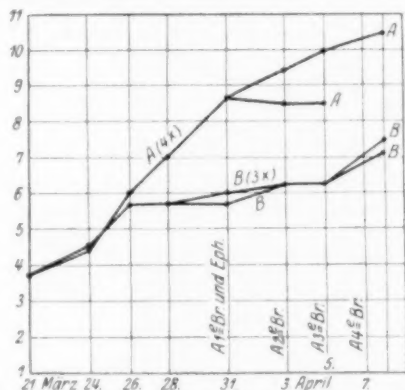
Acht neugeborene Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A getrocknete Nebennierenrinde ± 1 mg. Einmaliger Zusatz beim Anfang der Kultur¹⁾.

B Kontrolle ohne Zusatz.

| Datum | Größe in Okularmikrometerstrichen | | | | Bemerkungen | | | |
|----------|-----------------------------------|------|---------------|-----|--|-----|--|-----|
| | A | | | | B | | | |
| 21. März | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 |
| 24. " | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,6 | 4,6 | 4,6 | 4,6 |
| 26. " | 6 | 6 | 6 | 6 | 5,7 | 5,7 | 5,7 | 5,7 |
| 28. " | 7 | 7 | 7 | 7 | 5,7 | 5,7 | 5,7 | 5,7 |
| 31. " | 8,7 | 8,7 | 8,7 | 8,7 | 6 | 6 | 6 | 5,7 |
| | (Junge im Brutraum oder Ehippia) | | | | was die Ehippia betrifft, siehe die Anmerkung S. 224 | | | |
| 3. April | 8,5 | 8,5 | (Eph. abgel.) | | 6,3 | 6,3 | 6,3 | 6,3 |
| | 9,5 | 9,5 | 2. Br. | | Ehippialtiere bleiben, wie immer in den Kulturen, im Wachstum zurück | | | |
| 5. " | 8,5 | 8,5 | | | 5. Apr. Ehippialtiere und zwei der Kontrolltiere entfernt | | | |
| 7. " | 10 | 10 | 3. Br. | | 6,3 | 6,3 | 6,3 | 6,3 |
| | 10,5 | 10,5 | 4. Br. | | 7,2 | 7,5 | <i>B</i> noch nicht geschlechtsreif, sehr gesund | |

Resultat: Bedeutender Unterschied im Wachstum. A hat 4 Bruten abgelegt, bevor in B Geschlechtsreife eintritt.



Kurve I.

Versuch 2. (Kurve II.)

Sechs Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

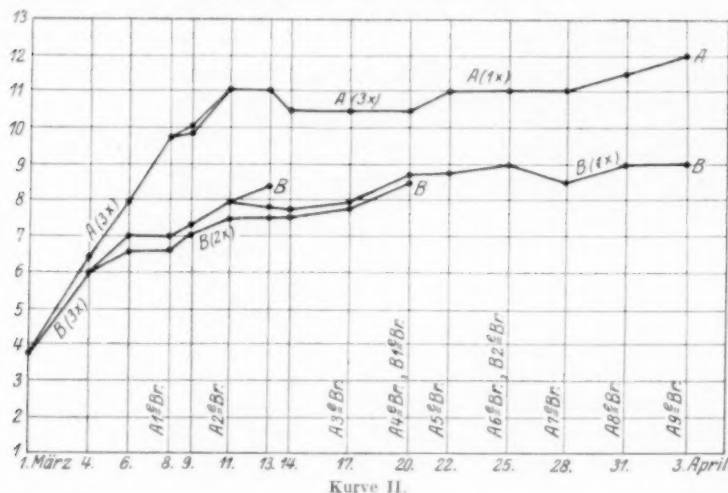
A getrocknete Nebennierenrinde 1 mg.

B Kontrolle.

¹⁾ Die Nebennierenrinde wird in den meisten Fällen zugesetzt, ohne dieselbe mit dem Kulturwasser zu verreiben. Falls besonderer Zwecke wegen eine Emulsion bereitet wurde, wird dies speziell Erwähnung finden, so auch wenn der Zusatz während des Versuchs wiederholt ist.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | | Bemerkungen | |
|------------|-----------------------------------|------|------|--------------------------------|-----|-----|-------------|--|
| | A | | | B | | | | |
| 1. März | 3,8 | 3,8 | 3,8 | | 3,8 | 3,8 | 3,8 | |
| 4. „ | 6,4 | 6,4 | 6,4 | | 6 | 6 | 6,1 | |
| 6. „ | 8 | 8 | 8 | | 6,6 | 7 | 7 | |
| 8. „ | 9,8 | 9,8 | 9,8 | 1. Br. (4, 6, 8) ¹⁾ | 6,6 | 7 | 7 | |
| 9. „ | 9,9 | 9,9 | 10 | | 7 | 7,3 | 7,3 | |
| 11. „ | 11 | 11 | 11 | 2. Br. (4, 8, 8) | 7,5 | 8 | 8 | |
| 13. „ | 11 | 11 | 11 | | 7,5 | 7,7 | 8,4 | |
| 14. „ | 10,5 | 10,5 | 10,5 | | 7,5 | 7,7 | | leichte Depress. Zum ersten- mal Zusatz von ein paar ccm frischen Wassers. Alle Jungen entfernt |
| 17. „ | 10,5 | 10,5 | 10,5 | 3. Br. | 7,7 | 7,9 | | |
| 20. „ | 10,5 | 10,5 | 10,5 | 4. Br. | 8,5 | 8,7 | 1. Br. | |
| 22. „ | 11 | 11 | 11 | 5. Br. | 8,7 | | | |
| 25. „ | 11 | | | 6. Br. (4) | 9 | | | 2. Br. Seit 22. März zwei Exem- plare von A und B für andere Zwecke benutzt ²⁾ |
| 28. „ | 11 | | | 7. Br. (6) | 8,5 | | | |
| 31. „ | 11,5 | | | 8. Br. (4) | 9 | | | |
| 3. Apr. 12 | | | | 9. Br. (5) | 9 | | | |

Resultat: Großer Unterschied, was Wachstum und Eintritt der Geschlechtsreife und allgemeine Fruchtbarkeit betrifft.



¹⁾ Diese Zahlen geben die Anzahl der Jungen im Brutraum an, wie ebenfalls in den anderen Versuchen. Br. = Brut, 1. Br. = erste Brut usw., Eph. = Ephippium.

²⁾ Von diesen Daphnien sind Kamerazeichnungen gemacht mit dem Ziel, einen Eindruck der Größenunterschiede der verschiedenen Organe und Organteile in den Nebennierenrinde- und Kontrollkulturen zu erhalten. Auch habe ich die Oberfläche der Schalenfazetten und der weißen Blutkörperchen gemessen, ohne jedoch einen merkbaren Unterschied zu finden. Die kleinen Darmzellen sind am lebenden Tier schwer zu messen und die Unterschiede im fixierten Präparat sind zu gering, um einen Ausspruch zu gestatten. Sehr deutlich — neben den Größenunterschieden der anderen Organe — sind auch die Vergrößerung des Kopfganglions, des Auges, der Glaskörper des letzteren und des Nebenauges bei den mit Nebennierenrinde behandelten Schwestern.

Versuch 3. (Kurve III.)

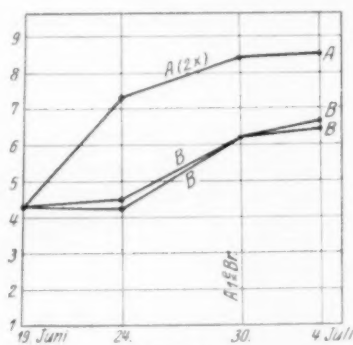
Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A 6 Tropfen Autoklavextrakt der getrockneten Rinde (= Extrakt von 3 mg).

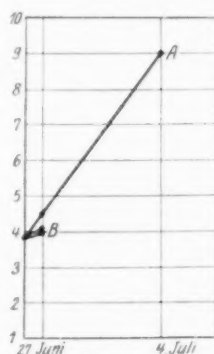
B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | Bemerkungen | |
|----------|-----------------------------------|-----|-------------|----------------------------------|
| | A | B | | |
| 19. Juni | 4,2 | 4,2 | 4,2 | 4,2 |
| 24. " | 7,2 | 7,2 | 4,5 | 4,2 |
| 30. " | 8,3 | 8,3 | 6,2 | 6,2 |
| 4. Juli | 8,5 | 8,5 | 6,7 | 6,5 (noch nicht geschlechtsreif) |

Resultat: Der wirksame Bestandteil, der Wachstum und Eintritt der Geschlechtsreife fördert, wird durch 3stündige Erhitzung im Autoklav bei einer Temperatur von 110° – 120° nicht vernichtet.



Kurve III.



Kurve IV.

Versuch 4. (Kurve IV.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A 2 Tropfen Autoklavextrakt der Rinde (Extrakt von 1 mg getrockneter Substanz). B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | |
|----------|-----------------------------------|-----|--------|-----------|
| | A | B | | |
| 27. Juni | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 |
| 28. " | 4,5 | 4,5 | 4,1 | 4 |
| 4. Juli | 9 | 9 | 1. Br. | beide tot |

Resultat: Das Autoklavextrakt von 1 mg getrockneter Substanz ist noch wirksam. Obwohl die Kontrollkultur schnell zugrunde ging und nicht zum Vergleich weiter dienen konnte, sieht man in A den schnellen Anstieg des Wachstums und den Absatz der ersten Brut innerhalb einer Woche nach der Geburt.

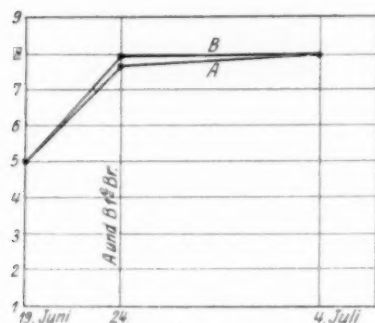
Versuch 5. (Kurve V.)

Zwei Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

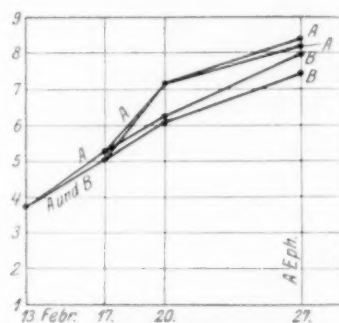
A 2 Tropfen fünfmal verdünnten Autoklavextraktes der Rinde (Extrakt von 0,2 mg). B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | Bemerkungen |
|----------|-----------------------------------|--------------|--|
| | A | B | |
| 19. Juni | 5 | 5 | |
| 24. " | 7,8 1. Br. (3) | 8 1. Br. (3) | |
| 4. Juli | 8 | 8 | Depression wie heute in mehreren Kulturen. |

Resultat: In dieser geringen Quantität ist der Einfluß des Nebennierenzusatzes nicht merkbar.



Kurve V.



Kurve VI.

Versuch 6. (Kurve VI.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A 1 Tropfen Autoklavextrakt der Rinde (= Extrakt von 0,5 mg).

B 1 " zehnmals verdünnten Extraktes (= Extrakt von 0,05 mg).

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | |
|-----------|-----------------------------------|-------------------------------|
| | A | B |
| 13. Febr. | 3,8 3,8 | 3,8 3,8 |
| 17. " | 5 5,2 | 5 5,2 |
| 20. " | 7,2 7,2 | 6,1 6,3 |
| 27. " | 8,4 8,2 (Ephippia) | 7,5 8 (nicht geschlechtsreif) |

Resultat: Ein Tropfen zehnmals verdünnten Autoklavextraktes ist in diesem Versuch weniger wirksam, als ein Tropfen unverdünnten Extraktes.

Versuch 7. (Kurve VII.)

Sechs Schwestern derselben Brut über drei Gläser verteilt.

A 2 Tropfen Autoklavextrakt der Nebennierenrinde (Extrakt von 1 mg getrockneter Substanz). B dasselbe zehnmals verdünnt. C Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | |
|----------|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|-----|
| | A | | B | | C | |
| 26. Juni | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| 4. Juli | 7,2 | 7,2 | 6,2 | 6,2 | 6 | 6,2 |

Resultat: Das Autoklavextrakt von 1 mg Nebennierenrinde fördert in diesem Versuch das Wachstum, das Extrakt von 0,1 mg aber nicht mehr in merkbarer Weise.

Versuch 8. (Kurve VIII.)

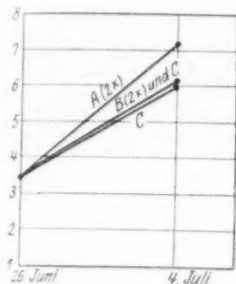
Zwei Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A Zusatz von 1 cem Filtrat der verbrannten Nebennierenrinde (10 mg der getrockneten Rinde verbrannt und gegläht, versetzt mit 10 cem Grubenwasser und nach 24 Stunden filtriert).

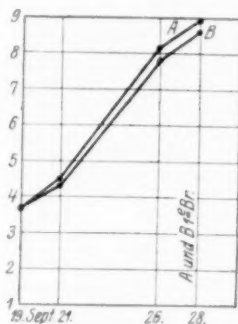
B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | |
|-----------|-----------------------------------|------------|
| | A | B |
| 19. Sept. | 3,7 | 3,7 |
| 21. „ | 4,5 | 4,2 |
| 26. „ | 8,1 | 7,8 |
| 28. „ | 9 1. Br. | 8,7 1. Br. |

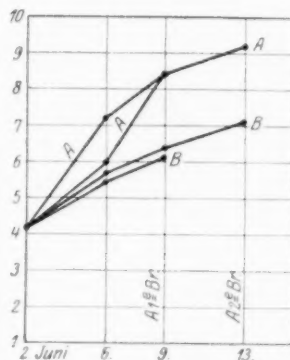
Resultat: Die Wirksamkeit der Nebennierenrinde kann nicht anorganischen Substanzen zuzuschreiben sein.



Kurve VII.



Kurve VIII.



Kurve IX.

Versuch 9. (Kurve IX.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A 1 mg getrockneter Nebennierenrinde, welche bei einer Temperatur von 110°—130° während 4 Stunden einem Luftstrom ausgesetzt wurde.

B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | Bemerkungen |
|---------|-----------------------------------|-----|----------------------------|
| | A | B | |
| 2. Juni | 4,2 | 4,2 | |
| 6. „ | 6 | 5,8 | |
| 9. „ | 8,5 | 6,2 | noch nicht geschlechtsreif |
| 13. „ | 9,3 ¹⁾ | 7,2 | „ „ „ |

Resultat: Der wirksame Bestandteil, welcher Wachstum und Eintritt der Geschlechtsreife fördert, wird durch 4stündige Erhitzung in einem heißen Luftstrom nicht geschädigt.

¹⁾ Das zweite Exemplar von beiden Kulturen wurde zwecks der mikroskopischen Untersuchung am 9. Juni entfernt.

Versuch 10. (Kurve X.)

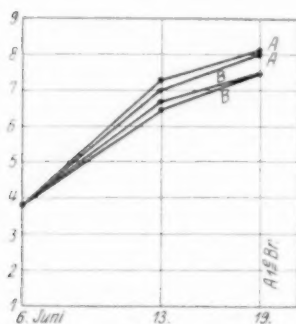
Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A 1 mg getrockneter Nebennierenrinde, welche bei einer Temperatur von 110°—130° während 4 Stunden einem Luftstrom ausgesetzt wurde.

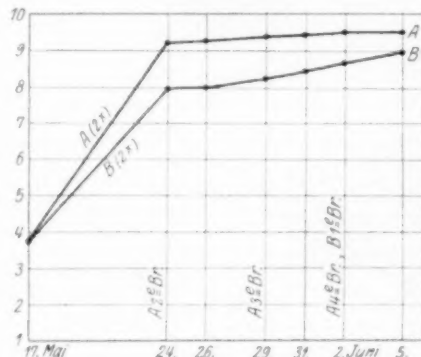
B 1 mg getrockneter, von Lipoid befreiter Rinde.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | Bemerkungen |
|---------|-----------------------------------|-----|-----|-----|----------------------------|
| 6. Juni | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | |
| 13. " | 7 | 7,2 | 6,5 | 6,8 | |
| 19. " | 8 | 8,1 | 7,5 | 7,5 | noch nicht geschlechtsreif |

Resultat: Beide Kulturen zeigen schnelles Wachstum. Das lipoidhaltende, mit einem heißen Luftstrom behandelte Präparat zeigt sich bei diesem Versuch etwas günstiger als das lipoidfreie.



Kurve X.



Kurve XI.

Versuch 11. (Kurve XI.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A \pm 1 mg getrocknete Nebennierenrinde nach Lipoidextraktion.

B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | Bemerkungen |
|---------|-----------------------------------|-------------------|---|
| | A | B | |
| 17. Mai | 3,8 | 3,8 | |
| 24. " | 9,2 | 8 | 2. Br. (6 u. 6) |
| 26. " | 9,2 | 8 | |
| 29. " | 9,4 | 8,3 ¹⁾ | |
| 31. " | 9,5 | 8,5 | Erneuerung des Kulturwassers, A wieder \pm 1 mg |
| 2. Juni | 9,6 | 8,8 | 4. Br. |
| 5. " | 9,6 | 9 | 1. Br. |

Resultat: Sowohl was Beförderung des Wachstums als was früheren Eintritt der Geschlechtsreife betrifft, ist die lipoidfreie Fraktion der Nebennierenrinde noch sehr wirksam. A hat bereits die vierte Brut, wenn B seine erste anfängt.

¹⁾ Die Schwestern sind zu mikroskopischen Messungen der verschiedenen Organe gebraucht. Siehe die Bemerkung S. 226.

Versuch 12. (Kurve XII.)

Fünf Schwestern derselben Brut über drei Gläser verteilt.

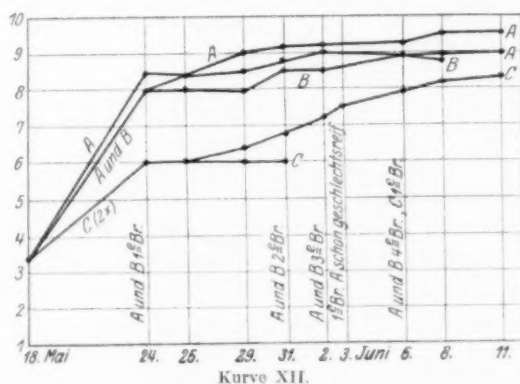
A 6 Tropfen Autoklavextrakt der getrockneten, von Lipoid befreiten Nebennierenrinde (Extrakt von 3 mg getrockneter Substanz).

B 6 Tropfen Autoklavextrakt der lipoidhaltenden Nebennierenrinde (Extrakt von 3 mg der getrockneten Substanz).

C Kontrolle. 6 Tropfen Leitungswasser.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | Bemerkungen |
|---------|-----------------------------------|-----|-----------------|-------------|------------|-----------------------------|
| | A | | B | | C | |
| 18. Mai | 3,5 | 3,5 | | 3,5 | 3,5 | |
| 24. „ | 8 | 8,5 | 1. Br. (4 u. 3) | 8 | 1. Br. (1) | 6 6 noch nicht geschlechts- |
| 26. „ | 8,3 | 8,3 | | 8 | 6 | 6 reif |
| 29. „ | 8,5 | 9 | | 8 | 6 | 6,4 |
| 31. „ | 8,7 | 9,2 | 2. Br. (2 u. 2) | 8,5 | 2. Br. (1) | 6 6,8 |
| 2. Juni | 9 | 9,2 | 3. „ (1 u. 3) | 8,5 | 3. „ (1) | 7,2 |
| 3. „ | | | | | | 7,6 1. Br. (1) |
| 6. „ | 8,9 | 9,2 | 4. „ | 9 | 4. „ | 7,9 |
| 8. „ | 9 | 9,6 | | 8,9 | | 8,2 |
| 11. „ | 9 | 9,6 | | verunglückt | | 8,4 reife Eier im Ovar |

Resultat: Das Autoklavextrakt der getrockneten, von Lipoid befreiten Nebennierenrinde ist also noch sehr wirksam geblieben, zeigt sich in diesem Versuch sogar, was die Förderung des Wachstums betrifft, noch aktiver als das Extrakt der lipoidhaltenden Rinde. A und B haben je vier Bruten abgesetzt gegenüber C eine Brut.



Versuch 13. (Kurve XIII.)

Sechs Geschwister derselben Brut über drei Gläser verteilt.

A ± 1 mg getrockneter Nebennierenrinde.

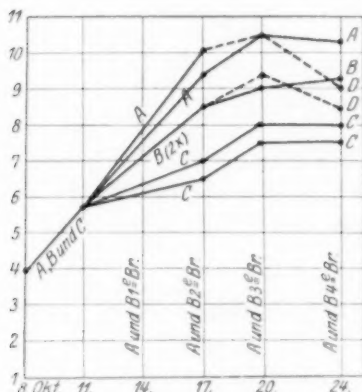
B ± 1 mg getrockneter, bei Autoklavextraktion unlöslicher Teil der Rinde (dreimal gewaschen).

C Kontrolle.

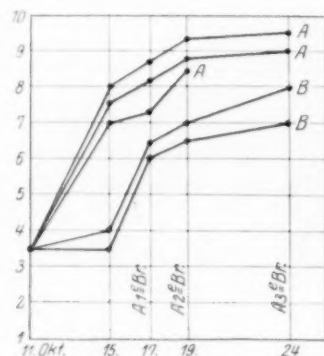
Nach Verlauf von 9 Tagen sind aus A und aus B je ein Exemplar in eine Emulsion mit ± 1 mg in vacuo eingedampftem Äther-Alkoholextrakt der getrockneten Nebenniere gebracht = D.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | | | | | | | | D |
|---------|-----------------------------------|-----|------------|--|---------|-----|------------|--|----------------------------|-----|------------------|------------|-------------|
| | A | | | | B | | | | C | | | | |
| 8. Okt. | 4 | 4 | | | 4 | 4 | | | 4 | 4 | | | |
| 11. " | 5,8 | 5,8 | | | 5,8 | 5,8 | | | 5,8 | 5,8 | | | |
| 14. " | 1. Brut | | | | 1. Brut | | | | noch nicht geschlechtsreif | | | | |
| 17. " | 9,5 | 10 | 2. Br. (8) | | 8,5 | 8,5 | 2. Br. | | 6,5 | 7 | | | |
| 20. " | 10,5 | | 3. Br. (9) | | 9 | | 3. Br. (2) | | 7,5 | 8 | 10,5 | 3. Br. (7) | 9,3 |
| 24. " | 10,2 | | 4. Br. | | 9,3 | | 4. Br. | | 7,5 | 8 | 9 nichts | 8,5 nichts | |
| | | | | | | | | | noch nicht geschlechtsreif | | im Brutraum | | im Brutraum |
| | | | | | | | | | | | beide Depression | | |

Resultat: A und B zeigen, was Wachstum und Eintritt der Geschlechtsreife betrifft, einen großen Unterschied mit der Kontrollkultur, welche noch nicht geschlechtsreif ist, wenn A und B schon



Kurve XIII.



Kurve XIV.

vier Bruten abgesetzt haben, und sogar die erste Brut von A schon reife Eier hat. Was das Wachstum angeht, so bleibt B A gegenüber etwas zurück, aber jedenfalls muß ein wirksamer Bestandteil, nach der Extraktion im Autoklav, im unlöslichen Teil anwesend oder adhärent bleiben. Werden A und B zusammen in ein Glas übertragen, welches eine Emulsion von ± 1 mg Nebennierenrindenlipoid enthält, so dauert das Wachstum noch kurze Zeit fort, bis ein ziemlich schroffer Fall mit Depression eintritt. Auch in anderen Fällen ergab sich, daß die Lipoidfraktion bisweilen zeitlich die Fruchtbarkeit fördern kann, daß aber die Kultur ziemlich schnell zur Depression schreitet.

Versuch 14. (Kurve XIV.)

Fünf Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A ± 1 mg getrockneter Nebennierenrinde, feingerieben in Wasser.

B ± 1 mg Lipoidfraktion derselben, feingerieben in Wasser.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | Bemerkungen |
|----------|-----------------------------------|-----|-----|--------|-------|----------------------------|
| | A | | | B | | |
| 11. Okt. | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | |
| 15. » | 7 | 7,5 | 8 | 3,5 | 4 | |
| 17. » | 7,3 | 8,2 | 8,7 | 1. Br. | 6 6,4 | noch nicht geschlechtsreif |
| 19. » | 8,5 | 8,8 | 9,4 | 2. » | 6,5 7 | |
| 24. » | | 9 | 9,5 | 3. » | 7 8 | reife Eier im Ovar |

Resultat: Die Geschlechtsreife tritt bei B erst ein, als A schon drei Bruten abgesetzt hat. Auch der Unterschied im Wachstum ist sehr bedeutend. Die Lipoidfraktion wirkt also viel weniger günstig.

Versuch 15. (Kurve XV.)

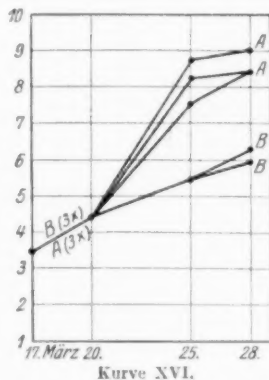
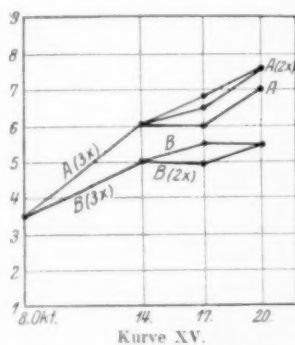
Sechs Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde.

B \pm 1 mg Lipoid aus der getrockneten Rinde (Emulsion in Grubenwasser).

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | | |
|---------|-----------------------------------|-----|-----|--------------------|-----|-----|-------------------------|
| | A | | | B | | | |
| 8. Okt. | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | |
| 14. » | 6 | 6 | 6 | 5 | 5 | 5 | |
| 17. » | 6 | 6,5 | 6,8 | 5 | 5 | 5,5 | Depression |
| 20. » | 7 | 7,5 | 7,5 | reife Eier im Ovar | 5,5 | 5,5 | 5,5 alle drei sterbend. |
| 26. » | alle drei gesund. | | | | | | |

Resultat: Die getrocknete Nebennierenrinde ist wirksamer als die Lipoidfraktion derselben.



Versuch 16. (Kurve XVI.)

Sechs Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A Getrocknete Nebennierenrinde des Schweines \pm 1 mg.

B Cholesterin Merck \pm 1 mg.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | |
|----------|-----------------------------------|-----|-----|--------|-----|---|
| | A | | | B | | |
| 17. März | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 | 3,5 |
| 20. „ | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 |
| 25. „ | 7,7 | 8,5 | 8,8 | 1. Br. | 5,5 | 5,5 5,6 |
| 28. „ | 8,5 | 8,5 | 9 | 2. Br. | 6 | 6,4 noch nicht geschlechtsreif. Ein Exemplar tot, beide anderen gesund. |

Resultat: Cholesterin Merck ist viel weniger günstig als die getrocknete Rinde.

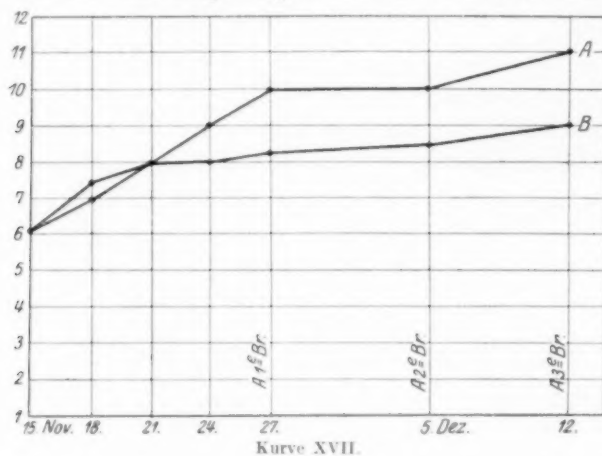
Versuch 17. (Kurve XVII.)

Zwei Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A \pm 1 mg in vacuo eingedampften Autoklavextraktes der Nebennierenrinde nach Extraktion desselben mit warmem Alkohol 95%. B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | |
|----------|-----------------------------------|--------------------------------|
| | A | B |
| 15. Nov. | 6,2 | 6,2 |
| 18. " | 7,5 | 7 |
| 21. " | 8 | 8 |
| 24. " | 9 | 8 |
| 27. " | 10 1. Br. (6) | 8,3 noch nicht geschlechtsreif |
| 5. Dez. | 10 2. Br. (5) | 8,5 " " " |
| 12. " | 11 3. Br. (6) | 9 " " " |

Resultat: Der wirksame Bestandteil wird nicht entfernt durch Alkoholextraktion des eingedampften Autoklavextraktes der Rinde.



Versuch 18. (Kurve XVIII.)

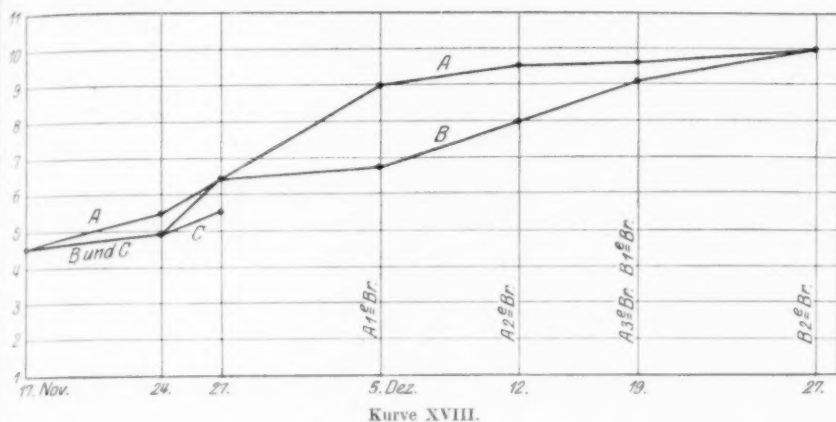
Drei Schwestern derselben Brut über drei Gläser verteilt.

A \pm 1 mg in vacuo eingedampften Autoklavextraktes der Nebennierenrinde nach Extraktion desselben mit warmem Alkohol 95%.

B \pm 1 mg des in vacuo getrockneten Alkoholextraktes. C Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | |
|----------|-----------------------------------|----------------|-----|
| | A | B | C |
| 17. Nov. | 4,5 | 4,5 | 4,5 |
| 24. " | 5,5 | 5 | 5 |
| 27. " | 6,5 reife Eier im Ovar | 6,5 Depression | 5,5 |
| 5. Dez. | 9 1. Br. (4) | 6,8 " " | tot |
| 12. " | 9,5 2. Br. (4) | 8 | |
| 19. " | 9,6 3. Br. (2) | 9,2 1. Br. (4) | |
| 27. " | 10 4. Br. | 10 2. Br. | |

Resultat: Die getrocknete Nebennierenrinde nach erfolgter Alkohol-extraktion ist, was die Fruchtbarkeit betrifft, wirksamer als das eingedampfte und in vacuo getrocknete Alkoholextrakt. Die dritte Brut von A fällt mit der ersten von B zusammen.



Kurve XVIII.

Die nächstfolgenden Versuche geben Beispiele von der größeren Wirksamkeit der Nebennierenrinde von *schwangeren* Tieren nicht schwangeren gegenüber, falls die Substanz in derselben Quantität der Kultur zugesetzt ist. In den meisten Versuchen war in dieser Hinsicht die Wirkung von Nebennierenrinde aus dem 3. und 5. Schwangerschaftsmonat günstiger als aus späteren Monaten; und von acht Versuchen, in welchen der Einfluß von 5 und 3 Monaten verglichen wurde (es standen von jedem Stadium zwei Präparate verschiedener Tiere zur Verfügung), war sechsmal die Nebennierenrinde aus dem 5. Schwangerschaftsmonat am kräftigsten wirksam, während zweimal kein Unterschied nachzuweisen war.

Von diesen ersten Versuchen seien die folgenden erwähnt:

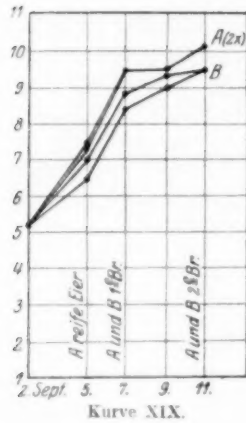
Versuch 19. (Kurve XIX.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde eines 5 Monate schwangeren Rindes.

B \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde eines nicht schwangeren Rindes.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | |
|----------|-----------------------------------|------|-------------------------------|
| | A | | B |
| 2. Sept. | 5,2 | 5,2 | 5,2 5,2 |
| 5. " | 7,3 | 7,4 | 6,5 7 |
| 7. " | 9,5 | 9,5 | 8,5 8,9 1. Br. (4 und nichts) |
| 9. " | 9,5 | 9,5 | 9 9,4 |
| 11. " | 10,1 | 10,1 | 9,5 9,5 2. Br. (4 und 4) |



Resultat: Die Nebennierenrinde des 5 Monate schwangeren Rindes fördert das Wachstum und die Fruchtbarkeit mehr als diejenige des nicht schwangeren Tieres.

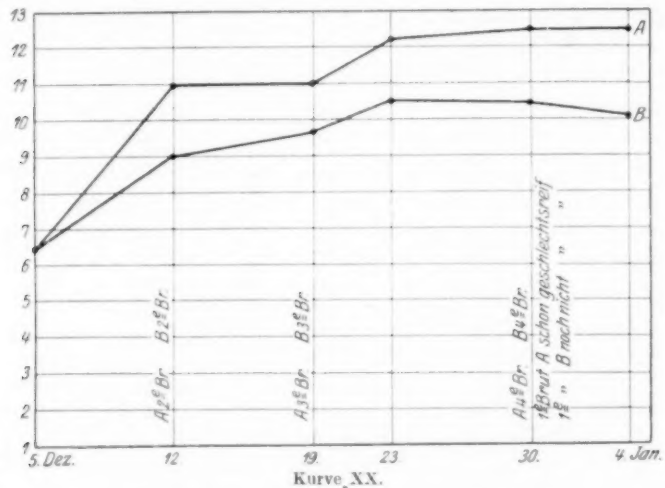
Versuch 20. (Kurve XX.)

Zwei Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde des 5 Monate schwangeren Tieres.

B \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde des 3 Monate schwangeren Tieres.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | |
|---------|-----------------------------------|------------------------|
| | A | B |
| 5. Dez. | 6,4 | 6,4 |
| 12. " | 11 2. Br. (10) | 9 2. Br. (4) |
| 19. " | 11 3. Br. (10) | 9,7 3. Br. (6) |
| 23. " | 12,3 | 10,5 |
| 30. " | 12,5 4. Br. (6) | 10,5 4. Br. (4) |
| | 1. Br. schon geschlechtsreif | 1. Br. noch nicht reif |
| 4. Jan. | 12,5 | 10 |



Resultat: Die Nebennierenrinde des 5 Monate schwangeren Rindes fördert in diesem Versuch das Wachstum mehr als diejenige des 3 Monate schwangeren Tieres. Die Geschlechtsreife tritt zur selben Zeit ein. Es werden aber in A mehr Junge geboren (26 Exemplare in 25 Tagen gegenüber 14 in Kultur B).

Versuch 21. (Kurve XXI.)

Sechs Schwestern derselben Brut über drei Gläser verteilt.

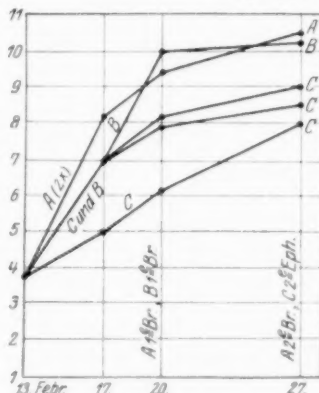
A \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde eines 5 Monate schwangeren Rindes.

B \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde eines anderen, 5 Monate schwangeren Rindes.

C \pm 1 mg getrockneter Nebennierenrinde eines 3 Monate schwangeren Rindes.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | |
|-----------|-----------------------------------|------------|------|------------|-----|-----------------|
| | A | | B | | C | |
| 13. Febr. | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 |
| 17. " | 8,1 | 8,1 | 7 | 7 | 7 | 5,0 |
| 20. " | 9,5 | 1. Br. (6) | 10 | 1. Br. (9) | 8,2 | 8,0 6,2 |
| 27. " | 10,4 | 2. Br. (3) | 10,2 | | 9 | 8,6 8 Ephippia. |

Resultat: Die beiden Nebennierenrinden aus dem 5. Schwangerschaftsmonat von verschiedener Herkunft verursachen ein schnelleres Wachstum als diejenige des 3. Monats. Der Vergleich ist aber weniger schön als in anderen Versuchen, weil die Kultur C zur Ephippialbildung schreitet und, wie schon früher gesagt, die Ephippialweibchen oft etwas im Wachstum zurückbleiben.



Versuch 22. (Versuch XXII.)

Neun Schwestern derselben Brut über drei Gläser verteilt.

A \pm 1 mg Nebennierenrinde des 7 Monate schwangeren Tieres.

B \pm 1 mg " " 3 " " "

C \pm 1 mg Cholesterin (Emulsion in Grubenwasser).

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | |
|---------|-----------------------------------|--------------------|-----|---------------------|-----|-----------------------------|
| | A | | B | | C | |
| 9. März | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 | 5 |
| 17. " | 9,5 | 9,5 9,5 | 8,8 | 8,8 8,8 | 6,8 | 7,5 7,5 |
| | | 2. Br. (2, 4 u. 4) | | 2. Br. (2) und Eph. | | noch nicht geschlechtsreif |
| 20. " | 9,6 | 10 10 | 9,7 | 9,7 9,7 | 7 | 7,6 7,8 |
| | | 3. Br. (2, 3 u. 4) | | | | noch nicht geschlechtsreif. |

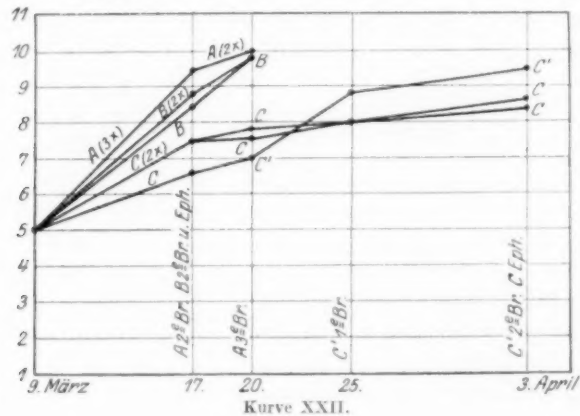
Von heute an der Versuch bloß mit C fortgesetzt. Das kleinste Exemplar übertragen in ein Glas mit Nebennierenrindezusatz, die beiden andern wieder in Cholesterin.

C 1 mg Cholesterin (Emulsion in Grubenwasser).

C' 1 mg Nebennierenrinde des 7 Monate schwangeren Tieres.

| Datum | C | | C' | |
|----------|-----|----------|-----|------------|
| 20. März | 7,6 | 7,8 | 7 | |
| 25. " | 8 | 8 | 8,9 | 1. Br. (3) |
| 3. April | 8,4 | 8,6 Eph. | 9,6 | 2. Br. (1) |

Resultat: Die Nebennierenrinde aus dem 7. Schwangerschaftsmonat ist etwas günstiger als diejenige des 3. Monats in diesem Versuch. Die Cholesterinkultur bleibt in Wachstum und Geschlechtsreife zurück; die Bildung der Ephippia fängt hier erst 17 Tage später an als in der Nebennierenrindekultur. Sehr deutlich ist der schnelle Anstieg nach Übertragung aus der Cholesterinkultur in eine Nebennierenrindekultur (C' gegenüber C).



Versuch 23. (Kurve XXIII.)

Die Anwesenheit von 16 Jungen in einer Brut — ein in meiner Daphnienkolonie seltenes Ereignis — wurde benutzt, um zur gleichen Zeit verschiedene Substanzen auf ihre Wirksamkeit zu untersuchen. Die 16 Daphnien wurden über acht Gläser verteilt.

A 20 Tropfen einer alten Daphnienkultur, welche seit 2 Monaten mit ± 1 mg Nebennierenrinde versetzt war. Weil die beiden Daphnien in Kultur A schon nach 8 Tagen abstarben, werden sie in der begleitenden Kurve keine Erwähnung finden.

B ± 1 mg Lecithin Merck (Emulsion).

C ± 1 mg getrockneter Nebennierenrinde eines 5 Monate schwangeren Rindes.

D ± 1 mg „ „ „ 3 „ „ „

E 5 Tropfen Autoklavextrakt der getrockneten Nebennierenrinde (= Extrakt von 2,5 mg.)

F Kontrolle.

G ± 1 mg in vacuo getrockneten Alkoholextrakts des getrockneten Autoklavextraktes.

H ± 1 mg getrockneter Nebennierenrinde des Schweines.

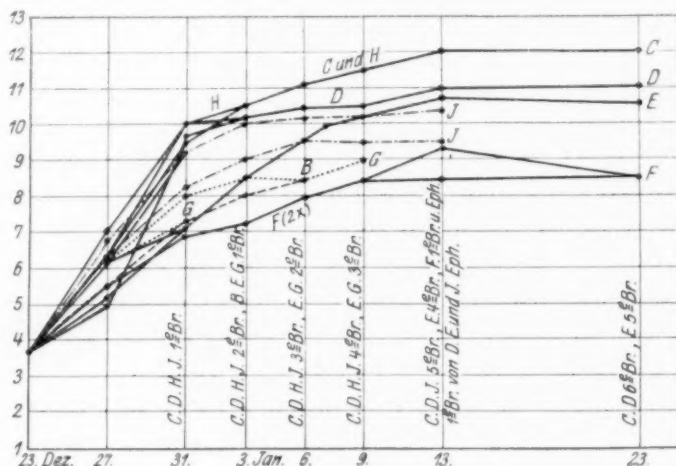
I ± 1 mg in vacuo eingedampften Äther-Alkoholextrakts der getrockneten Rinde (Emulsion).

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | |
|----------|-----------------------------------|-----|-----|-----|-----|---------------------|
| | A | | B | | C | |
| 23. Dez. | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 | 3,8 |
| 27. „ | 5,2 | 5,6 | 5,6 | | 6,2 | 6,4 |
| 31. „ | | | 7,4 | | 9,2 | 9,5 1. Br. (5 u. 8) |

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | |
|---------|-----------------------------------|------------------------|
| | B | C |
| 3. Jan. | 8 1. Br. (3) | 10,5 2. Br. (10) |
| 6. " | 8,4 (3 Abortiveier) | 11 3. Br. (16) |
| 9. " | ¹⁾ | 11,5 4. Br. (15) |
| 13. " | | 12 5. Br. (15) |
| | | 1. Br. geschlechtsreif |
| 23. " | | 12 6. Br. (8) |

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | |
|----------|-----------------------------------|---------------------------|--------------------------|
| | D | E | F |
| 23. Dez. | 3,8 3,8 | 3,8 3,8 | 3,8 3,8 |
| 27. " | 5 6,5 | 5,2 6,2 | 5,5 5,6 |
| 31. " | 9,8 10 1. Br. (7 u. 10) | 7,1 7,3 | 7 7,1 |
| 3. Jan. | 10,2 10,2 2. Br. (7 u. 10) | 8,2 8,5 1. Br. (4) | 7,2 7,2 |
| 6. " | 10,5 10,5 3. Br. (5 u. 6) | 8,2 10 2. Br. (6 u. Eph.) | 8 8 |
| 9. " | 10,5 10,5 4. Br. (6 u. 8) | 10,2 3. Br. (9) | 8,5 8,5 |
| 13. " | 11 5. Br. (8) | 10,8 4. Br. (7) | 8,5 9,3 (1. Br. u. Eph.) |
| | 1. Br. Ehippia | 1. Br. Ehippia | |
| 23. " | 11 6. Br. (8) | 10,6 5. Br. (1) | 8,6 8,6 (Ehippia) |

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | |
|----------|-----------------------------------|-----------------|-------------------------------------|
| | G | H | I |
| 23. Dez. | 3,8 3,8 | 3,8 3,8 | 3,8 3,8 |
| 27. " | 6,2 6,2 | 5,5 7,1 | 6,6 6,8 |
| 31. " | 7,4 8 | 10 | 1. Br. (12) 8,3 9,2 1. Br. (3 u. 4) |
| 3. Jan. | 8,5 1. Br. (1) | 10,5 2. Br. (9) | 9 10 2. Br. (4 u. 5) |
| 6. " | 8,4 2. Br. (1) | 11 3. Br. (8) | 9,5 10,2 3. Br. (4 u. 5) |
| 9. " | 9 3. Br. (2) | 11,5 4. Br. (8) | 9,5 10,3 4. Br. (2 u. 6) |
| 13. " | | | 9,3 10,5 5. Br. (1) 1. Br. Ehippia. |



Kurve XXIII.

¹⁾ Die Kultur B ist am 9. Jan. verunglückt.

Resultat: Auch bei diesem Versuch ist der günstige Einfluß der Nebennierenrinde des 5 Monate schwangeren Tieres bemerkbar. Auch die Kurve der mit Nebennierenrinde des 3 Monate schwangeren Tieres behandelten Kultur bleibt oberhalb derjenigen des Autoklavextraktes. Kurve H (Nebennierenrinde des Schweines) verhält sich ungefähr ebenso günstig als C, was das Wachstum betrifft; es blieben aber in C viel mehr Junge am Leben. Es ist mir nicht bekannt, ob dieses Nebennierenrindepräparat des Schweines einem schwangeren oder nicht schwangeren Tiere entstammt. Kultur I (in vacuo getrockneter Äther-Alkoholextrakt) zeigt im Anfang schnelleres Wachstum, bleibt jedoch später zurück. Auch ist die Anzahl der Jungen in jeder Brut viel geringer als in den obengenannten. Weniger günstig verhalten sich die Kontrollkultur F, die Lezithinkultur B, und Kultur G (in vacuo getrocknetes Alkoholextrakt des getrockneten Autoklavextraktes der Rinde), sowohl was Wachstum, Anzahl der Bruten und der Jungen in jeder Brut betrifft. Bloß die Kontrollkultur schreitet zur Ehippialbildung, während in den meisten übrigen Kulturen dasselbe erst eine Generation später eintritt. In Kultur C blieb während des Versuchs die größte Anzahl Daphnien (in einem Wirrnetz langfädiger Algen) am Leben.

Daß die Nebennierenrinde günstiger wirkt als die Marksubstanz, geht z. B. aus den folgenden Versuchen hervor:

Versuch 24. (Kurve XXIV.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A Nebennierenrinde ± 1 mg. B Nebennierenmark ± 1 mg.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | |
|-----------|-----------------------------------|-----|--------------------|-----------------------------------|
| | A | | B | |
| 12. Febr. | 4,5 | 4,5 | 4,5 | 4,5 |
| 20. " | 8,5 | 8,7 | 1. Br. (2 u. 2) | 7 7,5 |
| 27. " | 8,8 | 9,2 | Eph. ¹⁾ | 7,7 8 noch nicht geschlechtsreif. |

Resultat: Sowohl was Wachstum als Eintritt der Geschlechtsreife betrifft, bleibt die Markkultur zurück.

Versuch 25. (Kurve XXV.)

Vier Schwestern derselben Brut über drei Gläser verteilt.

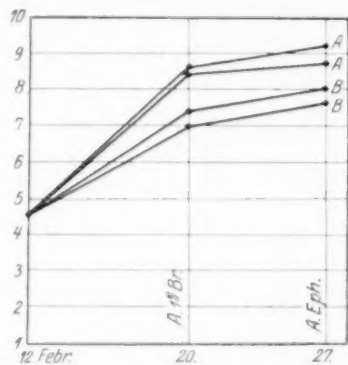
A ± 1 mg Nebennierenmark. B ± 1 mg Hypophysis (Pars anterior).

C Kontrolle.

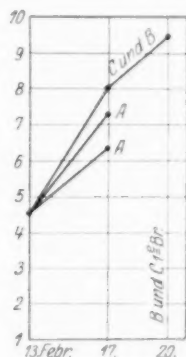
| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | | | |
|-----------|-----------------------------------|-----|-----|------------|-----|------------|
| | A | | B | | C | |
| 13. Febr. | 4,5 | 4,5 | 4,5 | | 4,5 | |
| 17. " | 6,3 | 7,3 | 8 | | 8 | |
| 20. " | beide tot | | 9,5 | 1. Br. (6) | 9,5 | 1. Br. (6) |

¹⁾ In diesem Fall geht eine parthenogenetische Brut der Ehippialbildung voran, was relativ selten in den Kulturen vorkommt.

Resultat: In diesem Versuch bleibt sogar die mit ± 1 mg Marksubstanz behandelte Kultur einer Kontrollkultur gegenüber im Wachstum zurück. Die mit 1 mg Hypophysis behandelte Kultur verhält sich in diesem Fall wie die Kontrollkultur.



Kurve XXIV.



Kurve XXV.

Auch die Wirkung eines ähnlichen Zusatzes von getrockneter Leber (in derselben Weise bereitet) — obwohl keineswegs ungünstig für die Daphnien — läßt sich nicht mit der Nebennierenrinde vergleichen, wie z. B. aus den folgenden Versuchen hervorgeht.

Versuch 26. (Kurve XXVI.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

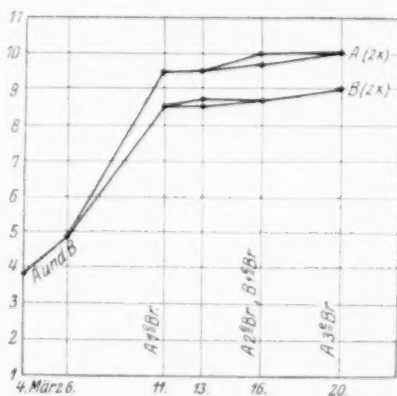
A 1 mg Nebennierenrinde eines spätschwangeren Meerschweinchens.

B 1 mg Leber desselben Tieres.

Datum Länge in Okularmikrometerstrichen

| A | | |
|---------|-----|---------------------|
| 4. März | 3,8 | 3,8 |
| 6. " | 4,7 | 4,7 |
| 11. " | 9,5 | 9,5 1. Br. (4 u. 5) |
| 13. " | 9,5 | 9,5 |
| 16. " | 9,8 | 10 2. Br. (6 u. 6) |
| 20. " | 10 | 10 3. Br. (5 u. 7) |

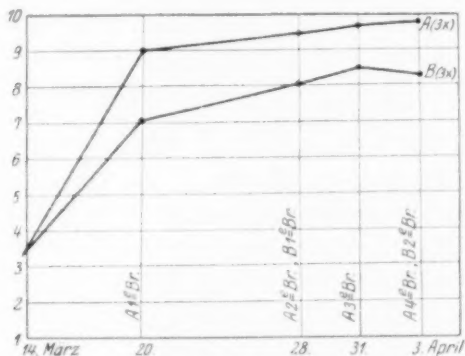
| B | | |
|---------|-----|---------------------|
| 4. März | 3,8 | 3,8 |
| 6. " | 4,7 | 4,7 |
| 11. " | 8,5 | 8,5 |
| 13. " | 8,6 | 8,7 |
| 16. " | 8,7 | 8,7 1. Br. (1 u. 1) |
| 20. " | 9 | 9 |



Kurve XXVI.

Resultat: Bedeutender Unterschied, was Wachstum, Anfang der Geschlechtsreife und Anzahl der Jungen in jeder Brut betrifft.

Es wird hier zuletzt noch ein Versuch mit *salzsaurem* Cholin erwähnt, dessen Bereitung ich Dr. J. W. Le Heux, Konservator des hiesigen Pharmakologischen Institutes, verdanke. Weil, wie Dr. Le Heux für mich nachwies, das S. 223 und weiter erwähnte wirksam gebliebene Autoklavextrakt noch Cholin enthielt, war es angezeigt, Versuche mit dieser Substanz zu machen. Es stellte sich heraus, daß Konzentrationen von 0,02% schädlich für die Daphnien sind. Auch bei nied-



Kurve XXVIII.

rigeren Konzentrationen, welche wohl vertragen werden, findet keine Förderung des Wachstums oder der Fruchtbarkeit statt. Als Beispiel sei der folgende Versuch erwähnt.

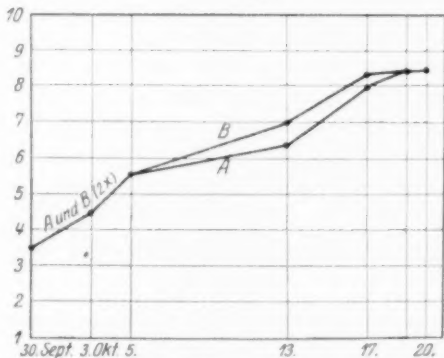
Versuch 29. (Kurve XXIX.)

Vier Schwestern derselben Brut über zwei Gläser verteilt.

A 5 Tropfen 0,05% igen salzsauren Cholins auf 10 ccm Grubenwasser.

B Kontrolle.

| Datum | Länge in Okularmikrometerstrichen | | | |
|-----------|-----------------------------------|-----|-----|--|
| | A | | B | |
| 30. Sept. | 3,6 | 3,6 | 3,6 | 3,6 |
| 3. Okt. | 4,6 | 4,6 | 4,6 | 4,6 (ein Exemplar verunglückt, in jede Kultur ein Exempl. gelassen) |
| 5. „ | 5,6 | | 5,6 | |
| 13. „ | 6,3 | | 7 | |
| 17. „ | 8 | | 8,3 | |
| 20. „ | 8,4 | | 8,4 | |



Kurve XXIX.

Resultat: Das salzsaure Cholin wirkt nicht befördernd auf die Daphnien.

Zusammenfassung der Resultate.

Aus den hier beschriebenen Versuchen geht hervor, daß ein einmaliger Zusatz von einer kleinen Quantität getrockneter Nebennierenrinde (± 1 mg) eine äußerst günstige Wirkung auf die allgemeine Gesundheit der Daphnien hat, das Wachstum kräftig fördert, die Geschlechtsreife früher eintreten läßt und öfters die Zahl der Bruten und der Jungen in jeder Brut vermehrt. Außerdem ergibt sich aus länger-dauernden Versuchen, daß schädliche Umstände, wie Wucherung von Pilzen und das Wachstum von mehrzelligen, langfädigen Algen, welche die Kontrollkulturen sonst schnell zugrunde richten, sehr gut — oft monatelang, falls die Temperaturverhältnisse günstig sind — von den Daphnien vertragen werden. Wie schon S. 221 erwähnt wurde, hat sich bei dieser Behandlung eine ungenügend gereinigte Daphnienkultur von Februar bis Juli am Leben erhalten. Die Vermutung liegt nahe, an eine entgiftende Wirkung der Nebennierenrindesubstanz auf Stoffwechselprodukte zu denken, was jedenfalls nicht in Widerspruch steht mit den Untersuchungen der letzten Jahre über die vermutliche Funktion der Nebennierenrinde¹⁾.

Meine Versuche sind größtenteils an einem seit dem Jahre 1910 von mir im Laboratorium kultivierten, sich parthenogenetisch fortpflanzenden Daphnienstamm angestellt. Dieselben Resultate habe ich aber an einer im Herbst 1920 aus Amerika mitgebrachten Kultur von *Daphnia pulex*²⁾ erhalten. Die Daphnien wurden in filtriertem Grubenwasser mit einzelligen Algen kultiviert. Wie aus den Beschreibungen hervorgeht, wurden für jeden Versuch immer Junge aus derselben Brut von derselben Länge gebraucht. Die parthenogenetische Fortpflanzung macht, wie gesagt, diese neugeborenen Schwestern zu einem äußerst schönen vergleichenden Material. Seit 1910 habe ich ein Register dieser Kulturen geführt, in welchem auf einfache Weise jedes Individuum seine eigene Stelle erhält, ausgehend von dem Prinzip, daß z. B. *Daphnia* - - 123 die dritte Brut von der zweiten Brut von *Daphnia* - - 1³⁾ bedeutet. Aus dieser Formel läßt sich in vergleichenden Versuchen sofort bei zwei Schwesterkulturen, A und B z. B., die günstige Wirkung der Nebennierenrinde dem *Mark* gegenüber auf die Fortpflanzung nachweisen:

¹⁾ Für die Literatur verweise ich auf *Biedl*, Innere Sekretion.

²⁾ Diese Kultur verdanke ich Dr. A. M. Banta, Laboratorium of experimental Evolution, Cold Spring Harbor.

³⁾ Die Striche stehen bequemlichkeitshalber an der Stelle von einer ganzen Reihe Zahlen der Vorgeschlechter, welche seit 1910 registriert sind. Für die Literatur verweise ich auf S. 222 Anmerkung 1.

10. Jan. 1920 A D. - - 42¹⁾ Zusatz von Nebennierenrinde ± 1 mg.
 B D. - - 42 " " " " mark ± 1 mg.
 27. Febr. 1920 A (jüngste Generation und Brut) D. - - 4212.
 B (" " " " " ") D. - - 423.
 3. März 1920 A (" " " " " ") D. - - 4213.
 B (" " " " " ") D. - - 424.

Und in einem anderen Versuch:

8. Dez. 1920 A D. - - 413 (Eph.) Zusatz von ± 1 mg Nebennierenrinde.
 B D. - - 413 (Eph.) " " " " ± 1 mg " mark.
 10. Jan. 1921 A (jüngste Generation und Brut) D. - - 413 (Eph.) 5 und
 D. - - (Eph.) 6.
 B (jüngste Generation und Brut) D. - - 413 (Eph.) 1 und
 D. - - (Eph.) 2.

In derselben Weise überblickt man sofort die günstige Wirkung der Nebennierenrinde im Vergleich zur Hypophysis (Pars anterior).

3. März 1921 A D. - - 4212 Zusatz v. ± 1 mg Nebennierenrinde.
 B D. - - 4212 " " " " ± 1 mg Hypophysis (Pars ant.)
 29. " 1921 A (jüngste Generation mit Brut) D. - - 421213.
 B (" " " " " ") D. - - 42122.

Wie man ebenfalls aus den Kurven²⁾ und den begleitenden Beschreibungen ablesen kann, fördert der geringe einmalige Zusatz den Eintritt der Geschlechtsreife in solchem Grad, daß oft die Versuchskultur drei oder mehr Bruten abgelegt hat, bevor die Kontrollschwestern auch nur zur Eibildung schreiten.

Selbstverständlich gibt es auch andere Substanzen, welche günstig auf eine Daphnienkultur wirken; z. B. der Zusatz von einer kleinen Quantität frischer oder getrockneter Hefe kann zeitlich einer Kultur nützlich sein; er wird jedoch immer später von einer Depression gefolgt. Auch der Zusatz von getrockneter Leber in ähnlicher Quantität wie die Nebennierenrinde kann eine leichte Förderung des Wachstums und der Fruchtbarkeit geben; wie man aus den Versuchen 25—27 sehen kann, verhält sich der Nebennierenrindezusatz jedoch durchaus günstiger.

Es genügt, die kleine Quantität getrockneter Substanz dem Kulturwasser zuzusetzen. Rings um die Körnchen bildet sich oft ein Pilzlager, ohne die Kultur zu schädigen³⁾.

¹⁾ Siehe Anm. 3 S. 244.

²⁾ Natürlich findet das Wachstum dieser Crustaceen bloß während einem kurzen Moment nach jeder Schalenwechselung statt. Dieses erklärt den oft mehr unregelmäßigen Verlauf der Kurven als man bei andern Tieren mit weniger ausgesprochenem schubweisem Wachstum antrifft.

³⁾ Bisweilen tritt in den Kulturen eine dunkelblaue Färbung der zugesetzten

Es stellte sich bei meinen Versuchen heraus, daß die Nebennierenrinde des schwangeren Rindes kräftiger wirksam ist als diejenige des nicht schwangeren Tieres. Dies gilt besonders für die 5 ersten Schwangerschaftsmonate. Mit Präparaten aus späteren Schwangerschaftsmonaten habe ich unregelmäßigere Resultate erhalten. Von acht Versuchen war sechsmal die Rinde aus dem 5. Monat der Schwangerschaft noch wirksamer als aus dem 3. Monat (es wurden Präparate von verschiedenen Tieren benutzt); in den zwei übrigen Versuchen bestand kein wesentlicher Unterschied zwischen den beiden (Versuch 19—22).

Der wirksame Bestandteil ist löslich in Wasser und wird bei 2stündiger Extraktion im Autoklav bei einer Temperatur von 110° bis 120° nicht vernichtet (Versuch 3—7). Verschiedene Substanzen, welche bei dieser Temperatur zersetzt werden, kommen also bei der näheren Analyse der wirksamen Substanz nicht in Betracht. Weil Cholin noch im Autoklavextrakt angetroffen wurde, habe ich einige Versuche mit salzsaurem Cholin angestellt, welche Substanz aber, wie sich sofort ergab, keineswegs das Wachstum und die Fruchtbarkeit der Daphnien fördert (Versuch 29). Es muß sich also um andere Stoffe handeln, welche nicht im Autoklav bei dieser Temperatur vernichtet werden. Anorganische Substanzen spielen bei dieser Wirkung der Nebennierenrinde jedenfalls keine bedeutende Rolle (Versuch 8). Das eingedampfte und getrocknete Autoklavextrakt ist wirksamer als der gewaschene und nachher getrocknete, im Autoklav nicht lösliche Teil, welcher letztere jedoch nicht total unwirksam ist (Versuch 13).

Daß die Lipoidfraktion der Nebennierenrinde weniger befördernd wirkt als das von Lipoid befreite Nebennierenrindepräparat, geht aus verschiedenen Versuchen hervor (Versuch 10—15). Versuch 16 zeigt nebenbei die Unwirksamkeit des Cholestrins (Merck) in dieser Hinsicht.

Eine Erhitzung im heißen Luftstrom bei einer Temperatur von 110°—130° während 4 Stunden beeinträchtigt in keiner Weise die Wirksamkeit des Präparates (Versuch 9 und 10). Es ist bekannt, daß

Körnchen auf, dieselbe Farbe, welche man bei der Indophenolsynthese mit dem bekannten *Röhmman-Spitzerschen* Reagens findet. Möglicherweise handelt es sich hier um eine spontane Indophenolsynthese, wobei also sowohl die Anwesenheit von Oxydase als von Chromogen vorauszusetzen wäre. Spezifisch für die Nebennierenrinde ist diese Blaufärbung jedoch nicht, denn ich habe dieselbe auch bei zugesetzter Thyreoidea und Hypophysis auftreten sehen. In all diesen Fällen kam sie, wie gesagt, bloß sporadisch zum Vorschein; mikroskopisch sieht man dunkelblaue Schollen in dem selbstverständlich bei der Trocknung im Brutschrank schlecht fixierten Gewebe. Versuche, mit dem *Röhmman-Spitzerschen* Reagens willkürlich eine Oxydasereaktion hervorzuführen, fielen negativ aus.

Vitamine A und besonders Vitamine C sehr schnell in einem erwärmten Luftstrom vom Sauerstoff vernichtet werden; auch ist es sehr fraglich, ob Vitamine B diese hier angegebene Behandlung verträgt. Es ist übrigens auch in anderer Hinsicht sehr unwahrscheinlich, daß es sich hier bei meinen Versuchen um eine Vitamine Wirkung handelt. Vitamine würden nämlich in viel niedriger Quantität noch wirksam sein. Wie aus Versuch 5—7 hervorgeht, hat das Autoklavextrakt von 0,2 mg getrocknete Nebennierenrinde (einmaliger Zusatz zu 20 ccm Kulturwasser) kaum einen merkbaren Einfluß mehr.

Die Nachwirkung des Nebennierenrindezusatzes bei Übertragung der Daphnien in ein anderes Medium dauert im allgemeinen bloß sehr kurze Zeit; ebenso schnell wie der Anstieg bei einem einmaligen Zusatz von 1 mg getrockneter Nebennierenrinde sein kann, ebenso schnell kann die günstige Wirkung nach der Übertragung in ein ungünstiges Medium verloren gehen (z. B. Versuch 13D).

Meine Daphnienkolonie, welche sich ohne Degenerationszeichen seit 1910 im Laboratorium fortpflanzt, wird, wie gesagt, mit einzelligen Algen ernährt, welche sich an der Wand des Grubenwasserfiltralthalers absetzen. Weil der Nebennierenrindezusatz auf die Dauer das Algenwachstum fördern kann, wurde in längerdauernden Versuchen dafür gesorgt, daß auch die Kontrolltiere mehr Algen erhielten als zu ihrer Sauerstoffversorgung erforderlich war. Die Möglichkeit ist also ausgeschlossen, daß eine eventuelle Algenvermehrung die Ursache des besseren Gedeihens der Nebennierenrindekulturen war. Es ergab sich übrigens, daß auch im Dunkeln angestellte Versuche, wo das Wachstum der Algen ausgeblieben war, übereinstimmende Resultate gaben, was die günstige Wirkung der Nebennierenrinde betrifft.

Falls die Kulturgläser nicht wöchentlich, oder im Winter zweiwöchentlich, gereinigt werden, findet oft eine Verunreinigung mit mehrzelligen Fadenalgen statt. Wie ich oben erwähnt habe, vertragen die mit Nebennierenrinde behandelten Daphnien im Gegensatz zu den Kontrollschwestern diese langen Algen in vortrefflicher Weise. Bei lange fortgesetzten vergleichenden Versuchen kam es deshalb bisweilen vor, daß die Kontrollkultur abstarb, obwohl sie unter ihren normalen Verhältnissen — wozu eine regelmäßige Reinigung im Laboratorium gehört — ohne Degeneration am Leben geblieben wäre. Bei kürzerdauernden Versuchen kann man natürlich dieser Schwierigkeit entgegengehen.

Der günstige Einfluß der Nebennierenrinde beschränkt sich nicht auf diese Cladoceren. Während zweier Jahre angestellte Untersuchungen haben ergeben, daß auch junge Süßwasserschnecken (*Limnaea*), wenn sie derselben Behandlung unterworfen werden, ein stark beschleunigtes Wachstum und bessere Gesundheit aufweisen als die

Kontrollkulturen. Über diese letzteren Versuche werde ich demnächst berichten.

Die Aufgabe, die sich jetzt stellt, ist die Isolation der wirksamen Substanz, welche in solch ausgesprochener Weise die Daphnienkulturen beeinflußt. Im hiesigen Pharmakologischen Institut wird man versuchen, diese Aufgabe zu lösen. Für die Prüfung der isolierten Substanzen bietet der während des ganzen Jahres sich parthenogenetisch fortpflanzende, in seinen Wachstumsverhältnissen seit 13 Jahren bekannte Daphnienstamm das möglichst günstige Material.

(Aus dem histologischen Institut der Deutschen Universität in Prag.
Vorstand: Prof. Dr. A. Kohn.)

Über die Zweikernigkeit der Leberzellen.

Von

Dr. Franz Theodor Münzer,

Assistenten am Institut.

(Ausgeführt mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung
Deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.)

(Eingegangen am 23. November 1922.)

Inhaltsübersicht.

| | Seite |
|---|-------|
| I. Einleitung und Geschichtliches. | 249 |
| II. Eigene Untersuchungen über das Vorkommen zweikerniger Leberzellen | 253 |
| a) an Säugetieren und anderen Wirbeltieren. | |
| b) während der embryonalen und postembryonalen Lebenszeit. | |
| c) in den verschiedenen Leberregionen. | |
| d) unter verschiedenen physiologischen Verhältnissen (Jahreszeit, Gravidität). | |
| e) Entstehung und Vergleich der beiden Kerne in Leberzellen. | |
| f) Zusammenfassung. | |
| III. Über das Zustandekommen und die Bedeutung der Zweikernigkeit im allgemeinen | 274 |
| IV. Literaturnachweis | 280 |

I.

Die Kenntnis der Zweikernigkeit vieler Leberzellen ist so alt wie die dieser Zellen selbst. Seither wurde diese Tatsache öfters erwähnt, doch meist nur gelegentlich; trotz der großen Anzahl diesbezüglicher verstreuter Mitteilungen wurde sie nur selten zum selbständigen Untersuchungsgegenstande ausersehen.

Dies geschieht in folgender Darstellung, welche sich hauptsächlich auf die Zweikernigkeit der *Leberzellen von Säugetieren* bezieht. Es mußte vor allem das Vorkommen dieser Erscheinung bei verschiedenen Säugetieren nachgeprüft werden, da in der Literatur sehr widersprechende Angaben bestehen, um schließlich auch hier eine gewisse Gesetzmäßigkeit feststellen zu können. Hernach wurden die einschlägigen Verhältnisse bei einer Tierspezies im fetalen und postembryonalen Leben untersucht, wobei sich einige neue Tatsachen herausstellten, die zu gewissen theoretischen Folgerungen Anlaß gaben, welche am Schlusse besprochen und in einer folgenden, experimentellen Untersuchung näher ausgeführt und begründet werden sollen.

Als Entdecker der ganz auffallenden Tatsache von der Zweikernigkeit vieler Leberzellen im Gegensatz zu den meisten Drüsenzellen¹⁾ dürfen *Purkinje* (62)²⁾ und *J. Henle* (30) gelten, denen man überhaupt die Kenntnis der Leberzellen verdankt.

Gerlach (27) schreibt in seinem Handbuch der Gewebelehre: »Bisweilen beobachtet man auch Zellen mit zwei Kernen, welche dann auch größer als die einkernigen und meist etwas langgezogen sind.«

Kölliker (36) erwähnt die Zweikernigkeit der Leberzellen als sehr häufigen Befund bei jungen Säugetieren.

Im Gegensatz dazu hat *Budge* (15) eine solche sehr oft beim erwachsenen Menschen und Kaninchen beobachtet und nach den Untersuchungen *E. Wagners* (73) kommen Leberzellen mit zwei Kernen bei Kindern und Erwachsenen »häufig oder konstant« vor.

In seinem Handbuch der systematischen Anatomie äußert sich *J. Henle* (31): »Nicht selten sind kleinere Zellen, welche den Kern eng umgeben und größere, in welchen zwei Kerne bald dicht zusammen, bald in einiger Entfernung voneinander liegen. Auch Zellen mit drei bis fünf Kernen kommen hier und da, insbesondere bei jüngeren Individuen, vor (*Theile, Beale*). Niemals aber finden sich Formen, welche darauf deuteten, daß die beiden in einer Zelle enthaltenen Kerne aus der Teilung eines einfachen Kernes hervorgegangen seien oder, daß sie eine Abschnürung und Teilung der Zelle in zwei vorbereiteten.«

Peszke (56) wiederum sagt nur, daß zuweilen zwei Kerne in den Leberzellen vorkommen; ebenso *Ranvier* (63).

Während von anderen Autoren *E. Hering* (32, 33) das Vorkommen der Zweikernigkeit als einen »seltenen« Befund hinstellt, sehen ihn hingegen z. B. *G. Asp* (5) und *H. Frey* (24) als »nicht selten« an.

Die besonders verlässlichen Beobachtungen *W. Flemmings* (22) seien hier wörtlich wiedergegeben: »Die Leberzellen vieler Säugetiere neigen bekanntlich ebenfalls zur Zwei- und Mehrkernigkeit, aber dieser Zustand scheint hier physiologischen Schwankungen unterworfen zu sein.

¹⁾ Das hob besonders *S. Mayer* (50) in seinen »Adenologischen Mitteilungen« hervor. Dort heißt es (S. 182): »Während bei niederen Wirbeltieren das Vorkommen von mehreren Kernen und Riesenkernen in den großen Hautdrüsen und im Hoden von *Triton* und *Salamandra* schon lange bekannt ist, ist bei Säugetieren nur von der Leber des häufigen Vorkommens zweikerniger Drüsenzellen und merklich vergrößerter Zellkerne Erwähnung getan worden.« Doch bemerkt *M.* in einer Fußnote selbst dazu: »Das Vorkommen spärlicher zweikerniger Zellen ist in vielen Drüsen gelegentlich bemerkt worden, in Übereinstimmung mit anderen Autoren sehe ich die Belegzellen der Magenfundusdrüsen relativ häufig mit zwei und mehr Kernen ausgestattet.«

²⁾ Die in Klammer beigefügten Zahlen beziehen sich auf das Literaturverzeichnis am Schlusse der Arbeit.

Beim Kaninchen sind zweikernige Leberzellen ein sehr häufiger Befund. Bei mehreren Schweinslebern (erst etwa 1 Std. p. m. fixiert), fand ich $\frac{1}{4}$ — $\frac{1}{3}$ der Zellen zweikernig, auch drei- und mehrkernige.

H. Baum (6) sagt von der Leber des Pferdes, daß er auch Zellen — doch nur wenige — fand, welche zwei, ja drei Kerne enthalten.

Nach L. Pfeiffer (57) sind beim Kaninchen die Kerne sehr häufig zu zweien, mitunter sogar zu vierein in einer Zelle vorhanden.

Zweikernige Zellen beobachtete Braus (11) besonders bei Igel und Mensch; Böhm und Davidoff (10) beschreiben die Kaninchenleberzellen als fast ausschließlich zweikernig.

Hierher gehört auch die Beobachtung Reinkes (65), der Riesenzellenbildung der Leberzellen (bis zu sieben Kernen) beschreibt.

Von neueren Autoren befaßte sich W. Ellenberger (20) in seinem Handbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haustiere eingehender mit der Zweikernigkeit der Leberzellen. Nach seinen Beobachtungen sind Doppelkerne nicht häufig, sie sind meist kleiner als der einfache Kern uninucleärer Zellen und liegen dann dicht beieinander; sie sind auch chromatinreicher und färben sich intensiv. In anderen Fällen sind sie dem Kern uninucleärer Zellen in Größe und Beschaffenheit gleich. Auch drei und mehrere bis sieben, aber kleine Kerne werden ausnahmsweise gefunden. Was die Zellen selbst betrifft, so sind die binucleären und sehr seltenen trinucleären Zellen nicht größer als die uninucleären.

Es sei endlich erwähnt, daß man nach Pflüger (59) in den Leberzellen oft zwei Kerne antrifft, von denen der eine mit Karmin färbbar ist, der andere nicht; nach diesem Autor kann man gelegentlich auch eine größere Zahl von Kernen finden.

Soviel über die in der Literatur niedergelegten Angaben über das allgemeine Vorkommen der Zweikernigkeit der Leberzellen. Es fällt dabei auf, daß manche Autoren die Zweikernigkeit besonders bei bestimmten Tieren hervorheben, z. B. schon Beale bei Mensch und Kaninchen, Braus wiederum bei Igel und Mensch, Böhm-Davidoff und Pfeiffer beim Kaninchen, was dafür zu sprechen scheint, daß die Zweikernigkeit der Leberzellen nur bei gewissen Säugetieren häufiger vorkomme.

Die embryonale Leber wurde ebenfalls wiederholt untersucht und da gerade diese Befunde für die von mir später zu erörternde Ansicht von großem Wert sind, will ich einige derselben anführen:

Nach Beale (7) — und schon vor ihm berichtet Theile über gleiche Beobachtungen — sollen gerade beim Embryo zweikernige Zellen häufig sein, ja öfter bis zu sechs Kernen vorkommen, während die Leberzellen ausgewachsener Tiere fast immer nur einen Kern und nur selten zwei enthalten.

Budge (15) bestätigt die Angaben *Beales*, daß bei Embryonen die Kerne der Leberzellen sehr oft zwei, selbst mehr, bis sechs Kerne, bei erwachsenen Tieren meist nur einen Kern enthalten, doch hat *Budge* häufig auch bei erwachsenen Menschen und Kaninchen Zellen mit zwei Kernen beobachtet.

Es ist von Interesse, daß *Kölliker* (36) gerade bei jungen Säugtieren sehr häufig zwei Kerne in den Leberzellen fand, die auch oft die bestimmtesten Anzeichen einer Teilung darboten, in der Art, daß viele Zellen mit zwei Kernen »ohne schon in zwei zerfallen zu sein, doch eine bald schwächer, bald stärker ausgeprägte mittlere Scheidewand besitzen«.

Auch nach *Toldt* und *Zuckerlandl* (72) findet man in dem ersten Kindesalter öfter als bei Erwachsenen zweikernige Leberzellen. Doch konnten diese Autoren an ihren Objekten nicht so deutlich auf Zellteilung hindeutende Bilder erhalten, wie sie durch *Kölliker* beschrieben wurden.

Hingegen sagen *Bizzozero* und *Vassale* (9)¹⁾ von den Leberzellen junger Tiere (Katze, Meerschweinchen): »Die Gegenwart von zwei Kernen in einer Zelle ist etwas, was man im Vergleich zu dem, was in dem ausgewachsenen Organ beobachtet wird, als selten bezeichnen darf«.

Die hier mitgeteilten Beobachtungen über die Zweikernigkeit der Leberzellen werden oft zitiert; auch in den Lehrbüchern der Histologie [z. B. *Stöhr* (69), *Szymonowicz* (67), *Schaffer* (66)] geschieht ihrer, so widerspruchsvoll sie scheinen, Erwähnung, ohne daß sie besonderes Interesse erweckt hätten.

Über das Zustandekommen der Zweikernigkeit erfahren wir wenig. *Flemming* (23) gibt keine Erklärung; ihm, dem gründlichen Beobachter, fiel nur auf, daß dieser Befund schwankend und offenbar von wechselnden physiologischen Einflüssen abhängig ist.

Reinke (65) sieht in der Zweikernigkeit der Leberzelle, die durch Amitose zustande komme, »einen Versuch zur Regeneration, gleichsam ein Abklingen derselben«.

Nauwerck (52) war wohl der erste, der in der Amitose den Ausdruck eines im weiteren Sinne regenerativen Geschehens erblickte (1893).

Dagegen brachte *Czerny* (17) das »Auftreten von mehreren Kernen in einer Zelle in einen gewissen Zusammenhang mit dem Rückbildungsprozesse der Leberzellen«.

Später äußerte sich *W. Flemming* (23) — einen Gedanken *Chuns* (16) aufnehmend — über die Amitose in folgender Weise: »Fragmen-

¹⁾ *Bizzozero* und *Vassale*, l. c. S. 174.

tierung des Kerns, mit oder ohne nachfolgende Teilung der Zelle, ist überhaupt in den Geweben der Wirbeltiere ein Vorgang, der nicht zur physiologischen Vermehrung und Neulieferung von Zellen führt, sondern wo er vorkommt, entweder eine Entartung oder Aberration darstellt, oder vielleicht in manchen Fällen (Bildung mehrkerniger Zellen durch Fragmentierung) durch Vergrößerung der Kernperipherie dem zellulären Stoffwechsel zu dienen hat.«

II.

Wie diese keineswegs vollständige Literaturübersicht erkennen läßt, weichen die Angaben der einzelnen Autoren weitgehend voneinander ab. Bevor ich selbst eine Deutung der Zweikernigkeit zu geben versuchen will, seien die tatsächlichen Ergebnisse *eigener Untersuchung* mitgeteilt, die neben Berichtigung alter auch die Mitteilung einiger neuen Befunde gestatten werden.

Zunächst war es notwendig, sich über das Vorkommen der Zweikernigkeit der Leberzellen bei verschiedenen Säugetieren ein eigenes Urteil zu bilden. Es wurden folgende Säugetiere untersucht: a) Nager (Ratte, Feldhase, Kaninchen, weiße Maus, Hamster, Meerschweinchen und Ziesel), b) Wiederkäuer (Rind, Ziege und Schaf), c) Einhufer (Pferd), d) Insektenfresser (Igel und Maulwurf), e) Raubtiere (Katze, Hund und Fuchs), f) Schweine, g) Affen und h) Menschen. Die ausführlichen Ergebnisse der Untersuchung menschlicher Lebern sind in Tabelle III, d wiedergegeben.

Die in Betracht kommende Untersuchungsmethode sollte zunächst einen möglichst genauen Überblick über das *Vorkommen* zweikerniger Leberzellen und ihr *Zahlenverhältnis* zu den einkernigen ermöglichen. Das geschah meines Erachtens bis jetzt nur in zwei Arbeiten: *Arapow* (2) gibt den Prozentsatz der zweikernigen Zellen bei der weißen Maus mit ungefähr 20% an, ein anderer Schüler *Loukianows* (48), *Koutchouk* (43), fand beim Meerschweinchen 9,88%.

Als zweckmäßig erwies sich Formolfixierung in nicht allzu starker Konzentration, etwa eine 2—4%ige Formaldehydlösung, wie sie schon *Browicz* (12, 13, 14) empfohlen hatte. Doch kamen auch andere Fixierungsflüssigkeiten, z. B. die *Helly-Zenkersche* (nach der im hiesigen Institute gebräuchlichen Modifikation, nämlich: 65 Teile einer 3,5%igen Kaliumbichromatlösung, 20 Teile einer 5%igen Sublimatlösung, 10 Teile Formol mit oder ohne Zusatz von 5 Teilen Eisessig und mehrtägiger Nachbehandlung der Objekte in der Kaliumbichromatlösung allein) zur Verwendung.

Die in Formol fixierten Objekte wurden mittels des Gefriermikrotoms in 5 μ dicke Schnitte zerlegt und mit Hämatoxylin-Eosin oder Hämatoxylin-Pikrofuchsin gefärbt.

Die Auszählung der Zellen erfolgte nach Analogie der Differentialzählung des weißen Blutbildes. Ich unterscheide *drei* Arten von Leberzellen: die zumeist vorkommenden *einkernigen, gewöhnliche Leberzellen*, dann Zellen, die durch besonders *große Kerne* ausgezeichnet sind, wobei auch der Zelleib im Vergleich zu den zuerst erwähnten oftmals, keineswegs aber immer, vergrößert ist, *großkernige Leberzellen* und schließlich die *zweikernigen Leberzellen*. Die seltener vorkommenden drei- und vielkernigen wurden ebenfalls verzeichnet.

Ich ging nun so vor, daß jedem der drei Hauptlappen der Leber zwei Stücke entnommen und nach Formolfixierung in Gefrierschnitte zerlegt wurden. Von jedem dieser Stücke, also von sechs verschiedenen Stellen des Organs, wurden je zwei Schnitte genau ausgezählt, durchschnittlich 2—4000 Zellen bei jedem Individuum.

Die Resultate dieser Methode schienen für den vorliegenden Zweck vollkommen auszureichen. Schwerer fällt die Auszählung bei *embryonalen* Organen, die meist in Paraffin eingebettet wurden; bei älteren Fetten gelingt sie natürlich leichter.

Bei Laboratoriumstieren empfiehlt sich die Tötung der Tiere zur Zeit der Verdauung wegen der leichteren Abgrenzbarkeit der Zellen.

Die nun folgenden Übersichtstabellen über das Vorkommen der Zweikernigkeit bei verschiedenen Säugetieren (Tab. I, a—h) veranschaulichen das gefundene Ergebnis leichter, als viele Worte es vermöchten.

Wie aus den Tabellen zu ershen ist, kann ich die Angaben früherer Autoren bestätigen, daß die verschiedenen Säugetiere hinsichtlich der Zweikernigkeit ihrer Leberzellen ein verschiedenes Verhalten zeigen. Im großen und ganzen schwankt der Prozentsatz zweikerniger Zellen zwischen 1 und 20%. Im allgemeinen scheinen die Nagetiere am meisten (bis 26%) zweikernige Zellen zu besitzen, während das Pferd nur ungefähr 1% aufweist. Von den Carnivoren steht an erster Stelle der Hund mit 5—11%. Das Schwein hat 10—13%; der Mensch durchschnittlich 10%.

Wenn auch demnach das Vorkommen zweikerniger Leberzellen bei den Säugetieren ziemlich allgemein verbreitet ist, so daß es nicht als ein charakteristisches Merkmal bestimmter Spezies gelten kann, so lehrt doch die genauere Untersuchung, daß für jede Spezies ein bestimmter Prozentsatz annähernd konstant ist. Es hat z. B. die Zählung bei drei untersuchten Stieren (Tab. Ib, Nr. 1; Tab. VII, Nr. 1, Nr. 2) 2,91 %, 2,463 % und 2,57 % ergeben; die größte Differenz betrug somit nur 0,447 %. Bei den drei Schweinen (Tab. If) ergab die Zählung: 10,55 %, 13,21 % und 13,3 % und bei drei Pferden (Tab. Ic, Nr. 1—3): 1,300 %, 0,735 % und 1,24 %.

Dreikernige Zellen kommen schon viel seltener vor. Unter 133

Tabelle I. Die Zweikernigkeit bei verschiedenen Säugetieren.

a) Nager

| Nr. | Spezies | Gesamtzahl gezählter Zellen | darunter | | zwei- kernige Zellen in % | groß- kernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|---|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---|
| | | | groß- kernige Zellen | zwei- kernige Zellen | | | |
| 1 | Ratte, ♂ lebenswarm fixiert | 4367 | 68 | 709 | 16,235 | 1,557 | eine deutliche Kerneinschnürung. Auffallend ist das vermehrte Vorkommen zweikerniger Zellen um die vena centralis |
| 2 | Feldhase, ♂ 18. IX. 1921 | 4682 | 48 | 678 | 14,481 | 1,025 | eine sehr deutliche Kerneinschnürung |
| 3 | Feldhase, ♀ etwa 1jährig, 4 Stunden p. mort. fixiert. September 1921 | 1539 | 44 | 269 | 17,479 | 2,859 | |
| 4 | Kaninchen, ♂ 5 Monate alt | 2089 | 12 | 337 | 16,132 | 0,574 | |
| 5 | Kaninchen, ungef. 2 Jahre alt | 2268 | 46 | 468 | 20,65 | 2,028 | eine dreikernige Zelle |
| 6 | weiße Maus, ♂ lebenswarm fixiert | 2447 | 177 | 483 | 19,738 | 7,233 | |
| 7 | Hamster | 3522 | 75 | 530 | 15,048 | 2,129 | eine dreikernige Zelle |
| 8 | Meerschweinchen, ♂ sehr jung | 4085 | 4 | 115 | 2,81 | 0,098 | zwei Kerneinschnürungen |
| 9 | Meerschweinchen, ♀ gravid | 2584 | 14 | 228 | 8,82 | 0,542 | |
| 10 | Ziesel, ♀ gravid | 4416 | 218 | 1164 | 26,358 | 4,934 | elf dreikernige Zellen = 0,249% eine vierkernige Zelle |

b) Wiederkäuer

| | | | | | | | |
|---|--|------|-----|-----|-------|-------|-----------------------|
| 1 | Rind, ♂ (Stier) 3 Jahre alt | 3780 | 115 | 110 | 2,91 | 3,04 | eine Kerneinschnürung |
| 2 | Rind, ♀ (Kalbin) 1 Jahr alt | 3695 | 157 | 39 | 1,055 | 4,249 | |
| 3 | Rind, ♀ (Kuh) 20 Jahre alt | 4539 | 167 | 113 | 2,489 | 3,679 | |
| 4 | Rind, ♂ (Ochse) ungef. 9 Jahre alt (Peritonitis fibr.) | 3853 | 66 | 189 | 4,905 | 1,713 | |
| 5 | Ziege, 3 Jahre alt | 4733 | 57 | 76 | 1,605 | 1,204 | |
| 6 | Schaf, ♀ 1 Jahr alt | 4250 | 22 | 36 | 0,84 | 0,51 | |
| 7 | Schaf, ♀ 1 Jahr? | 4365 | 32 | 31 | 0,71 | 0,733 | eine Kerneinschnürung |

c) Einhufer

| | | | | | | | |
|---|------------------------------------|------|-----|----|-------|-------|--|
| 1 | Pferd, ♀ 7 Jahre alt April 1921 | 4459 | 191 | 58 | 1,300 | 4,283 | zwei Kerneinschnürn. eine dreikernige Zelle |
| 2 | Pferd, ♂ Kastrat, 6-7 Jahre alt | 5034 | 19 | 37 | 0,735 | 0,377 | |
| 3 | Pferd | 4590 | 73 | 57 | 1,24 | 1,59 | |

| Nr. | Spezies | Gesamtzahl gezählter Zellen | darunter | | zwei- kernige Zellen in % | groß- kernige Zellen in % | Anmerkung |
|---------------------------|--|-----------------------------------|----------------------------|----------------------------|------------------------------------|------------------------------------|--|
| | | | groß- kernige Zellen | zwei- kernige Zellen | | | |
| d) <i>Insektenfresser</i> | | | | | | | |
| 1 | <i>Igel</i> , ♀ 10. XII. 1912 | 4155 | 10 | 201 | 4,837 | 0,24 | eine Kerneinschnürung |
| 2 | <i>Igel</i> , ♀ laktierend Sommer 1920 | 3477 | 1 | 209 | 6,011 | 0,029 | eine dreikernige Zelle |
| 3 | <i>Igel</i> , ♂ 28. IX. 1919 | 4435 | 25 | 142 | 3,202 | 0,563 | dreie dreikernige Zellen eine viere kernige Zelle |
| 4 | <i>Igel</i> , ♂ November 1921 | 5489 | 8 | 253 | 4,609 | 0,146 | |
| 5 | <i>Maulwurf</i> , ♂ Juli | 3550 | 46 | 0 | 0 | 1,29 | |
| e) <i>Raubtiere</i> | | | | | | | |
| 1 | <i>Katze</i> , 3 Jahre alt | 3091 | 5 | 90 | 2,911 | 0,162 | eine Kerneinschnürung zwei dreikernige Zellen |
| 2 | <i>Katze</i> | 4277 | 4 | 125 | 2,92 | 0,093 | |
| 3 | <i>Hund</i> | 3366 | 8 | 329 | 9,774 | 0,238 | |
| 4 | <i>Hund</i> , ♂ (Dackel) etwa 1 Jahr alt | 4005 | 12 | 206 | 5,143 | 0,299 | |
| 5 | <i>Hund</i> , ♀ (Foxter.) | 4768 | 31 | 210 | 4,404 | 0,650 | eine Kerneinschnürung |
| 6 | <i>Hund</i> , ♂ ungef. 4 Jahre alt 6. XI. 1920 | 3445 | 16 | 268 | 7,779 | 0,464 | |
| 7 | <i>Hund</i> , ♀ laktie- rend, 2 Jahre alt | 4898 | 14 | 545 | 11,127 | 0,286 | eine dreikernige Zelle |
| 8 | <i>Fuchs</i> , etwa 1 jähr. | 3596 | 58 | 308 | 8,56 | 1,612 | |
| f) <i>Viehufer</i> | | | | | | | |
| 1 | <i>Schwein</i> | 1468 | 45 | 194 | 13,21 | 3,066 | eine Kerneinschnürung |
| 2 | <i>Schwein</i> | 4084 | 20 | 431 | 10,553 | 0,49 | |
| 3 | <i>Schwein</i> | 2188 | 15 | 291 | 13,3 | 0,686 | |
| g) <i>Primaten</i> | | | | | | | |
| 1 | <i>Affe</i> | 3938 | 26 | 306 | 7,682 | 0,66 | zwei dreikernige Zellen 52 dreikernige Zellen = 1,286 % zwei viere kernige Zellen vier fünfe kernige Zellen |
| 2 | <i>Macacus</i> | 4044 | 33 | 432 | 10,682 | 0,816 | |
| 3 | <i>Macacus</i> , 23. I. 1898 | 3662 | 34 | 132 | 3,621 | 0,928 | |
| h) <i>Mensch</i> | | | | | | | |
| 1 | ♂, 41 Jahre alt Diagn.: Paralysis progressiva | 3664 | 101 | 394 | 10,81 | 2,756 | sechs Kerneinschnürn. zwei dreikernige Zellen histologisch: geringe zentrale Atrophie der Leber (Stauungsleber) 15 Kerneinschnürungen histolog.: norm. Leber |
| 2 | ♀, 36 Jahre alt | 3758 | 105 | 384 | 10,218 | 2,793 | |

untersuchten Lebern verschiedener Tierarten und Individuen wurden einzelne bei Kaninchen, Hamster, Meerschweinchen, Ziesel, Pferd, Igel, Hund, Affe und Mensch gefunden; doch ist ihre Zahl eine sehr geringe; meist trifft man nur eine unter 2—4000 Leberzellen. Anscheinende Ausnahmen bildeten ein *Macacus* (Tab. Ig, Nr. 2) und ein Ziesel (Tab. Ia, Nr. 10). Bei beiden fanden sich relativ hohe Zahlenwerte und zwar bei ersterem 52 dreikernige Zellen unter 4040 Leberzellen, d. h. 1,286 %. Das Ziesel hatte unter 4416 Leberzellen 11 dreikernige, d. h. 0,249 %. Dabei wäre zu bemerken, daß der Affe längere Zeit in der Gefangenschaft gehalten wurde und somit sicherlich nicht unter normalen Lebensbedingungen stand. Das Ziesel war trächtig, und es wird sich später noch zeigen lassen, daß die Schwangerschaft bei manchen Tierarten die Zahl zwei- und mehrkerniger Leberzellen zu beeinflussen vermag. Es lassen sich also die beidemale gefundenen hohen Zahlenwerte der Mehrkernigkeit in Zusammenhang mit besonderen Lebensbedingungen bringen, wovon später noch ausführlicher die Rede sein soll.

Vierkernige Leberzellen sind unter normalen Bedingungen noch spärlicher. Ich sah sie bei drei Tieren: beim Ziesel (Tab. Ia, Nr. 10), bei einem Igel (Tab. Id, Nr. 4) und bei dem schon erwähnten Exemplar von *Macacus* (Tab. Ig, Nr. 2). Bei letzterem fanden sich auch 4 fünfkernige Leberzellen.

Drei-, vier- und mehrkernige Leberzellen kommen somit nur ganz ausnahmsweise vor, entgegen den früher erwähnten Angaben von *Pflüger*, *Pfeiffer* und *Reinke*. Zellen mit mehr als 5 Kernen habe ich bei den in den Tabellen angeführten, d. h. normalen Tieren niemals gesehen; manche anscheinend vier- und fünfkernige Zelle erwies sich bei genauerer Prüfung als eine Mehrheit von Zellindividuen.

Was die zweikernigen Zellen selbst betrifft, so sind sie hier und da etwas größer als die einkernigen und ihre beiden Zellkerne haben bei *Säugetieren* meist die gleiche Größe, was vielleicht für die Auffassung ihrer Entstehung nicht ohne Belang ist. Die Kerne zweikerniger Zellen sind auch häufig etwas kleiner als die der gewöhnlichen einkernigen Leberzellen.

Schließlich suchte ich auch Aufschluß zu gewinnen über die *Verteilung* der zweikernigen Zellen innerhalb eines und desselben Leberläppchens. Im großen und ganzen ist ihre Verteilung im Läppchen eine gleichmäßige; doch kommen gelegentlich stellenweise auch Anhäufungen zweikerniger Zellen vor, während die Nachbarschaft in weitem Umkreis fast nur einkernige enthält. Bei der Rattenleber (Tab. Ia, Nr. 1) habe ich das Vorherrschen zweikerniger Zellen um die Vena centralis herum besonders vermerkt. Dasselbe fand ich auch bei manchen menschlichen Lebern.

Angaben über die Zweikernigkeit der Leberzellen von *niederen Wirbeltieren* und *Wirbellosen* sind recht dürftig. Weder in älteren Arbeiten [Leydig (47), Hering (32, 33), Eberth (18, 19)] noch in der Oppels (54) über den *Proteus anguineus* oder Krauses (45), der die Leber von Salamandra, Axolotl, Schildkröte, Eidechse usw. als Untersuchungsobjekt wählte, noch in neueren — ich erwähne nur E. Koiransky (40) und W. Berg (8) — konnte ich etwas darüber auffinden.

Die einzigen Arbeiten, in denen die Zweikernigkeit Erwähnung findet, rühren von M. Weber (74) und A. Leonhard (46) her. Jener erwähnt das Vorkommen zweikerniger Zellen bei Crustaceen, Leonhard fand bei *Rana temporaria* gelegentlich zweikernige Zellen, hält ihre Zahl aber für sehr gering.

Ich habe deswegen auch die Leber *anderer Wirbeltierklassen*, und zwar von einigen Fischen, Amphibien und Reptilien daraufhin untersucht. Das Resultat ist aus der nächsten Tabelle (II) ersichtlich.

Ein Blick auf die gefundenen Ergebnisse zeigt zur Genüge, daß die Zwei-, bzw. Mehrkernigkeit der Leberzellen nicht nur den Säugetieren eigentümlich ist. Sie kommt, wenn auch in einem ganz geringen Prozentsatz, auch bei den übrigen Vertebraten vor. Am spärlichsten fand ich sie bei den von mir untersuchten drei Fischen. Bemerkenswert erscheint der für Amphibien relativ sehr hohe Gehalt von 4,342 % zweikerniger Zellen bei einem Exemplar von *Amblystoma*. Es handelte sich um ein mehrere Jahre im Institute gehaltenes Axolotl, welches nach Schilddrüsenfütterung innerhalb einer Woche die Verwandlung in die Landform eben vollzogen hatte.

Auch mehrkernige Zellen kommen bei niederen Wirbeltieren vor: so fanden sich bei dem gerade erwähnten, verwandelten Axolotl unter 6949 Zellen 3 dreikernige — das entspricht einem Prozentsatz von 0,043 % — und eine vierkernige Leberzelle.

Erwähnung verdient ferner der Befund an einer Eidechsenleber, bei welcher die Kerne fast regelmäßig an der Blutgefäßseite gelegen waren. Da gerade über die Kernlokalisation in der Leberzelle die Angaben widerspruchsvoll lauten, will ich kurz darauf zu sprechen kommen. Über eine derartige Lage der Zellkerne in der Leber niederer Wirbeltiere (Ringelnatter, Frosch) berichtet schon E. Hering (32), während Oppel (54) in seiner Arbeit über den *Proteus anguineus* ausdrücklich hervorhebt: »Die Leberzellen zeigen stets einen in der Mitte der Zelle befindlichen Kern«. Im Gegensatz dazu sagt W. Flemming (22): »Meist ist das Fadenwerk an der Seite der Zelle lokalisiert und verdichtet, welche dem Gallenröhrchen angrenzt, während der Kern an der entgegengesetzten dem Blutgefäße zugewandten Seite liegt ...« Dasselbe Verhalten des Kernes fiel mir ganz besonders an der Leber eines 3—4 Jahre alten Stieres auf. Diese besondere Kernlokalisation

Tabelle II. Die Zweikernigkeit bei einigen anderen Vertebraten.

a) Fische.

| Nr. | Spezies | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon großkernige Zellen | davon zweikernige Zellen | zweikernige Zellen in % | großkernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|---------------------------|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|-------------------------|-------------------------|-----------|
| 1 | <i>Ammocoetes Planeri</i> | 1711 | 0 | 4 | 0,234 | 0 | |
| 2 | <i>Anguilla vulgaris</i> | 2159 | 1 | 0 (+1 fragliche Zelle) | 0 | 0,046 | |
| 3 | <i>Cyprinus carpio</i> | 2781 | 7 | 3 | 0,1079 | 0,252 | |

b) Amphibien.

| | | | | | | | |
|---|---|------|----|---------------------------|--------------|-------|---|
| 1 | <i>Bufo vulgaris</i> | 2265 | 10 | 10 | 0,442 | 0,442 | |
| 2 | <i>Proteus anguineus</i> | 3505 | 16 | 15 | 0,428 | 0,456 | |
| 3 | <i>Salamandra maculata, Larve</i> | 3319 | 18 | 12 | 0,362 | 0,542 | |
| 4 | <i>Salamandra maculata, Larve</i> | 1743 | 71 | 11 | 0,631 | 4,073 | 6 deutliche Kerneinschnürungen. Auffallend ist der Unterschied der Kerngröße, wobei die großen Kerne oft längliche Formen und auch Einbuchtungen zeigen |
| 5 | <i>Salamandra maculata</i> ♂, Jan. 1922 | 3660 | 2 | 1 (+1 fragliche Zelle) | 0,027 | 0,05 | |
| 6 | <i>Triton</i> | 2016 | 0 | 7 | 0,347 | 0 | |
| 7 | <i>Amblystoma</i> (Axolotl) | 6949 | 17 | 209 | 4,302 | 0,244 | eine deutliche Kerneinschnürung, fünf dreikernige Zellen, eine vierkernige Zelle |

c) Reptilien.

| | | | | | | | |
|---|---|------|----|---|---------------|-------|--|
| 1 | <i>Tropidonotus natrix</i> | 2479 | 21 | 2 | 0,0807 | 0,847 | |
| 2 | <i>Pseudopus serpentinus</i> (Scheltopusik) | 1258 | 2 | 7 | 0,556 | 0,159 | |
| 3 | <i>Lacerta agilis</i> | 2266 | 2 | 7 | 0,309 | 0,088 | hervorhebenswert ist die Lokalisation der Kerne, die fast jedesmal in der Nähe der »Blutgefäßseite« gelegen sind |

steht offenbar in Zusammenhang mit der Tätigkeit der Leberzelle und die verschiedenen Angaben über die Kernlagerung lassen sich vielleicht darauf zurückführen, daß die Organe in verschiedenen Sekretionsphasen zur Fixierung gelangten. Diesen Schluß erlauben auch die Beobachtungen H. Baums (6), der die Leberzellen des Pferdes im Stadium der Ruhe und der Tätigkeit untersuchte und selbst bemerkt (l. c. S. 271): »Die Lage des Zellkernes ist verschieden; gewöhnlich

liegt er mehr zentral, rückt jedoch auch, besonders während der Tätigkeit, mehr nach der Peripherie. Dies stimmt auch mit den Beobachtungen *Haberlandts* (28) überein, welcher bei jungen Pflanzenzellen fand, daß die Kernlage von den Entwicklungsvorgängen abhängig ist und daß auch bei der Nahrungsaufnahme und Absonderung der Zelle der Kern mitbeteiligt ist. Analoge Verhältnisse bei tierischen Zellen haben dann *Korschelt* (42) und viele andere beschrieben.

Weiter konnte ich beobachten, daß die beiden Kerne einer Zelle, besonders bei Nichtsäugern, hier und da eine verschiedene Reaktion aufwiesen. In Präparaten, die mit Hämatoxylin und nach *Mallory* gefärbt waren, sieht man öfters in einer Zelle zwei Kerne, von denen der eine eine deutliche Affinität zu Orange, der andere zum Hämatoxylin erkennen läßt. Nicht selten zeigen die beiden Kerne verschiedenen Chromatingehalt und erscheinen demgemäß verschieden stark gefärbt. Dies entspricht offenbar dem bereits von *Pflüger* erhobenen und schon früher angeführten Befunde. Zu erwähnen ist ferner noch eine gelegentlich zu beobachtende Verschiedenheit in der Größe der beiden Kerne, besonders bei niederen Wirbeltieren im Gegensatz zu den Säugern, bei welchen die beiden Kerne in zweikernigen Zellen fast immer gleich groß sind.

Es erschien mir nun von Bedeutung, über das Auftreten der Zweikernigkeit an *embryonalen* Lebern Aufklärung zu gewinnen. Dies stößt auf große Schwierigkeiten, da mit dem Einsetzen der Blutbildung das früher klare Bild der embryonalen Säugetierleber verwischt wird, so daß es oft der Durchsicht einer sehr großen Anzahl von Gesichtsfeldern bedarf, bevor man eine genügende Zahl von Leberzellen deutlich zu sehen bekommt, und selbst dann ist es nicht immer leicht, die einzelnen jungen Zellen scharf voneinander abzugrenzen.

Wenn nun frühere Autoren (*Theile*, *Beale*, *Budge* usw.) in den embryonalen Leberzellen oft zwei und mehr Kerne fanden, ja sogar öfters als beim erwachsenen Tier, so erheben sich angesichts der angeführten Schwierigkeiten Zweifel, ob sie immer wirklich nur *Leberzellen* vor Augen hatten. Diese Bedenken erscheinen mir um so gerechtfertigter, als ich bei genauer Untersuchung selbst mit Zuhilfenahme von Immersionen die häufige Zweikernigkeit bei Embryonen nicht bestätigen konnte. Selbst bei älteren Feten, bei denen die Zählung naturgemäß viel leichter möglich ist, findet man zweikernige Zellen nur selten.

Ich habe sorgfältig Leberschnitte von Kaninchen-, Meerschweinchen-, Rinder- und menschlichen Embryonen durchmustert und stets nur spärlichst zweikernige Zellen gefunden, selbst beim Kaninchen, das im erwachsenen Zustande durch reichliche Zweikernigkeit ausgezeichnet ist.

Tabelle III. Die Zweikernigkeit in verschiedenen Altersstadien.

a) Kaninchen.

| Nr. | Alter, Geschlecht | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon groß- kernige Zellen | davon zwei- kernige Zellen | zwei- kernige Zellen in % | einkernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|-----------------------|-----------------------------------|----------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------------|--|
| 1 | Embryo, nahezu reif | 1117 | 0 | 2 (+2 frag- liche Zellen) | 0,179 | 0 | |
| 2 | neugeboren | 4208 | | 47 | 1,117 | | zwei Mitosen (darunter ein sehr schönes Monasterstadium), großkernige Zellen nicht zu sehen (Paraffineinbettung) |
| 3 | neugeboren | 2353 | 0 | 27 | 1,148 | 0 | |
| 4 | neugeboren | 3823 | | 40 | 1,046 | | |
| 5 | 5 Tage alt | 1614 | 6 | 14 | 0,867 | 0,372 | ein Monaster-, ein Diasterstadium, sehr viele Megakaryozyten |
| 6 | 12 Tage alt | 3499 | 28 | 37 | 1,057 | 0,80 | diese Exemplaren von einem Wurf |
| 7 | 21 Tage alt | 1674 | 7 | 101 | 6,034 | 0,417 | |
| 8 | 1 Monat alt | 4834 | 61 | 392 | 8,133 | 1,261 | drei Mitosen, eine dreikernige Zelle |
| 9 | 4 Monate alt | 4690 | 58 | 910 | 19,40¹⁾ | 1,23 | drei dreikernige Zellen |
| 10 | 5 Monate alt, ♂ | 2089 | 12 | 337 | 16,132 | 0,574 | |
| 11 | ca. 9 Monate alt, ♀ | 2483 | 74 | 376 | 15,14 | 2,98 | |
| 12 | 11½ Monate alt, ♂ | 7885 | 248 | 1463 | 18,554 | 3,146 | eine dreikernige Zelle |
| 13 | ungef. 2 Jahre alt, ♀ | 2268 | 46 | 468 | 20,65 | 2,028 | eine dreikernige Zelle |

¹⁾ Der Mutter dieses Tieres wurde während der Gravidität 1 ccm einer Hirn-emulsion von einem an Encephalitis Verstorbenen in das Gehirn injiziert. An dem Tiere selbst wurde einen Tag vor der Tötung eine korneale Variolareaktion sec. Paul gemacht. Ob damit der auffallend hohe Prozentsatz an zweikernigen Zellen in irgendeinem Zusammenhang steht, vermag ich nicht zu entscheiden.

b) Meerschweinchen.

| | | | | | | | |
|---|--|-------|----|-----|---------------|-------|-------------------------|
| 1 | Embryo ♂, 5cm lang | 1553 | 0 | 7 | 0,4507 | 0 | eine Kerneinschnürung |
| 2 | 3 Tage alt, ♀ | 4316 | 23 | 45 | 1,042 | 0,533 | eine Kerneinschnürung |
| 3 | 8 Tage alt, ♀ | 5086 | 49 | 73 | 1,435 | 0,963 | drei Kerneinschnürungen |
| 4 | 4 Wochen alt, 170 g schwer, 18. VIII. 1921 | 4722 | 13 | 104 | 2,02 | 0,275 | Tiere von einem Wurf |
| 5 | 5-6 Wochen alt, ♂, 14. VII. 1921 | 13325 | 38 | 391 | 3,11 | 0,285 | |
| 6 | über 2 Jahre alt, ♂ | 3796 | 29 | 319 | 8,409 | 0,764 | |

c) Rind.

| Nr. | Alter, Geschlecht | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon großkernige Zellen | davon zweikernige Zellen | zweikernige Zellen in % | einkernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|------------------------|---|
| 1 | Embryo, ♂, 8 cm lang | 855 | 0 | 2 | 0,233 | 0 | häufige eingekerbte Zellkerne bei gut erhaltenem Zelleibe |
| 2 | Embryo, ♂, 20 cm lang | 2276 | 2 | 5 | 0,0224 | 0,088 | eine Mitose, eine deutliche Kerneinschnürung |
| 3 | ♀ (Kalb), 6 Wochen alt | 5203 | 6 | 46 | 0,884 | 0,115 | |
| 4 | ♀ (Kuh), (gravid?) | 5068 | 158 | 101 | 1,993 | 3,117 | |
| 5 | ♂ (Ochs), 4 Jahre alt | 4491 | 164 | 192 | 4,276 | 3,651 | |

d) Mensch.

| Nr. | Alter, Geschlecht | Gesamtzahl gezählter Zellen | darunter großkernige Zellen | darunter zweikernige Zellen | zweikernige Zellen in % | einkernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|---|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-------------------------|------------------------|--|
| 1 | Embryo, ♂, 11 cm lang | 2407 | 6 | 3 | 0,125 | 0,249 | eine Mitose, zwei deutliche Kerneinschnürungen |
| 2 | Embryo, 4. Monat | 3291 | 13 | 11 | 0,334 | 0,395 | eine Mitose, vier Kerneinschnürungen |
| 3 | Embryo, ♂, 6. Monat | 2977 | | 20 | 0,672 | | eine Mitose, zwei Kerneinschnürungen |
| 4 | Embryo, ♂, 31 cm lang, 7.—8. Monat (Früh-, bzw. Totgeburt) | 3041 | | 22 | 0,723 | | vier Kerneinschnürungen |
| 5 | neugeboren, ♀ | 3611 | 5 | 56 | 1,55 | 0,166 | drei Kernabschnürungen |
| 6 | 2½ Monate | 2840 | 9 | 42 | 1,48 | 0,32 | eine Kerneinschnürung |
| 7 | 3½ Monate, ♂ | 2953 | 4 | 53 | 1,794 | 0,135 | zehn Kerneinschnürungen |
| 8 | 4 Monate, ♂, Diagn.: Gastroenteritis 17. XII. 1920 | 4076 | 5 | 69 | 1,693 | 0,122 | zwei Kernabschnürungen |
| 9 | 1½ Jahre, ♀, Diagn.: Diphtheritis, Tbk. | 3731 | 5 | 46 | 1,233 | 0,134 | |
| 10 | 6 Jahre | 3466 | 9 | 58 | 1,67 | 0,26 | sechs Kernabschnürungen |
| 11 | 27 Jahre, ♀, Diagn.: Kopfschuß; Status lymphaticus (nie gravid gewesen) | 4517 | 191 | 384 | 8,501 | 4,228 | |
| 12 | 36 Jahre, ♀ | 3758 | 105 | 384 | 10,218 | 2,794 | fünfzehn Kerneinschnürungen, histologisch: normale Leber |

d) Mensch. (Fortsetzung.)

| Nr. | Alter, Geschlecht | Gesamtzahl gezählter Zellen | darunter großkernige Zellen | darunter zweikernige Zellen | zweikernige Zellen in % | großkernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|---|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|--|
| 13 | 41 Jahre, ♂, Diagn.: Paralysis progres- siva | 3644 | 101 | 394 | 10,81 | 2,771 | sechs Kerneinschnü- rungen, eine drei- kernige Zelle, histo- logisch: geringe zen- trale Atrophie (Stau- ungsatrophie) d. Leber |
| 14 | 50 Jahre (?), ♂, Diagn.: Akrome- galie | 2887 | 66 | 325 | 11,258 | 2,28 | zehn Kerneinschnü- rungen, histologisch: nor- male Leber |
| 15 | 53 Jahre, ♂, Diagn.: Paralysis progres- siva | 1354 | 33 | 152 | 11,22 | 2,437 | zwei Kernabschnü- rungen, histologisch: nor- male Leber |
| 16 | 63 Jahre, ♀ (Tod durch Erhängen), Diagn.: Hydroze- phalus int.: Em- physema pulm. | 4340 | 163 | 481 | 11,08 | 3,75 | drei Kerneinschnü- rungen |
| 17 | 80 Jahre, ♀ | 5123 | 215 | 426 | 8,315 | 4,196 | sechzehn Kernein- schnürungen |

Aus der Tabelle III (a—d) gewinnt man einen Überblick über die relative Menge zweikerniger Zellen, bei Embryonen, Neugeborenen, jungen und älteren Individuen. Man überzeugt sich immer wieder, daß die Zweikernigkeit in der *embryonalen* Leber ein sehr seltenes Vorkommnis darstellt. Abgesehen von meinen eigenen Präparaten kann man dies auch Bildern der Literatur entnehmen. Man beachte z. B. im Lehrbuche von Schaffer das Bild der embryonalen Mausleber (S. 60), wo unter etwa 70 Zellen kaum eine zweikernige vorkommt, während die Leber der erwachsenen Maus deren 20% enthält.

Es stellt sich demnach heraus, daß die Lebern von Mensch und Tieren, die im erwachsenen Zustande 10% und mehr zweikernige Zellen besitzen, zur Zeit der Geburt deren kaum 1% aufweisen. Schon während des intrauterinen Lebens scheint die Zahl der zweikernigen Leberzellen mit dem Alter ein wenig zuzunehmen. Bei vier menschlichen Embryonen, von denen der kleinste eine Länge von 11 cm, der älteste von 31 cm hatte, stieg die Zweikernigkeit mit dem Alter von 0,125% bis 0,723% an.

Ist somit der Prozentsatz an zweikernigen Zellen bei Embryonen ein so geringer, wie er sich sonst *bleibend* nur bei den niederen Klassen der Wirbeltiere findet, so nimmt er auch *unmittelbar* nach der Geburt nicht sehr rasch zu, sondern bleibt einige Zeit nahezu unverändert. Dieses Beharrungsstadium währt bei verschiedenen Spezies, offenbar nach der Dauer ihrer Reifungszeit, verschieden lange. Bei den kleinen,

rasch heranreifenden Säugetieren (Kaninchen, Meerschweinchen) nimmt die Zweikernigkeit schon bald nach der Geburt deutlich zu, während man beim $1\frac{1}{2}$ Jahre alten Kinde noch keine wesentliche Erhöhung merkt. Dann aber setzt eine Vermehrung der Zweikernigkeit ein, die bis zur vollendeten Reife, bei Meerschweinchen, wo ich besonders darauf achtete, sogar über den Eintritt der Geschlechtsreife hinaus, anhält. Beim Kaninchen geht diese Zunahme in fast *gesetzmäßiger* Weise proportional dem Alter vor sich und erreicht ungefähr mit dem vollendeten 1. Lebensjahre ihr Maximum (Tab. III a). Die endlich erreichte Höchstzahl scheint für jede Spezies — immer die *gleichen* biologischen Bedingungen vorausgesetzt — ziemlich konstant zu sein. Allerdings fand ich bei einer 80jährigen Frau nur 8,315% zweikernige Zellen, was der Norm von 10–12% nicht ganz entspricht. Man könnte vielleicht auch daran denken, daß die Zweikernigkeit im höheren Alter wieder zurückgeht. Ich werde auf solche Möglichkeiten in einer späteren, vorwiegend experimentellen Untersuchung noch zurückkommen.

Fassen wir die bisherigen Ausführungen zusammen, so ergibt sich folgendes:

1. In der embryonalen Leber finden sich zweikernige Zellen, entgegen älteren Angaben, nur sehr selten, auch unmittelbar nach der Geburt nur spärlich.
2. Einige Zeit nach der Geburt beginnt die Zweikernigkeit in gesetzmäßiger Weise anzusteigen. Junge Tiere haben daher — im Gegensatz zu den Beobachtungen früherer Autoren — weniger zweikernige Zellen als erwachsene.
3. Mit vollendeter Reife erreicht die Zweikernigkeit ihr Maximum, das für jede Spezies eine ziemliche Konstanz zeigt (z. B. 10% für den Menschen, etwa 20% für das Kaninchen).

Mit Rücksicht auf die in einer späteren Arbeit zu schildernden Versuche schien es angezeigt, sich zu vergewissern, ob die Verteilung der zweikernigen Zellen innerhalb der gesamten Leber eine gleichmäßige sei. Das Resultat ist in Tabelle IV niedergelegt. Es handelt sich um Untersuchungen an einer Ratte, vier Kaninchen, einem Meerschweinchen, einer Ziege und einem Maulwurfe, die alle zu den gleichen Ergebnissen führten, daß nämlich der *Prozentsatz in allen drei Lappen derselbe ist*. Die größte beobachtete Differenz betrug bei einem erwachsenen weiblichen Kaninchen, welches durchschnittlich 20% zweikernige Leberzellen enthielt, nur 0,82%, — was wohl auf die Mängel der Methodik zurückgeführt werden kann. Auch Arapow (2), neben Koutchouk (43) der einzige Autor, der das Verhältnis der zweikernigen zu den einkernigen Leberzellen ermittelt

Tabelle IV. Die Prozentzahl zweikerniger Zellen in den verschiedenen Leberregionen.

| Nr. | Spezies | Rechter Lappen | | | | Mittellappen | | | | Linker Lappen | | | | Differenz der extremen Werte |
|-----|------------------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|------------------------------|
| | | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon groß-kernige Zellen | davon zwei-kernige Zellen | zwei-kernige Zellen in % | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon groß-kernige Zellen | davon zwei-kernige Zellen | zwei-kernige Zellen in % | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon groß-kernige Zellen | davon zwei-kernige Zellen | zwei-kernige Zellen in % | |
| 1 | Ratte, ♂ . . . | 1518 | 19 | 244 | 16,074 | 1774 | 21 | 246 | 16,69 | 1375 | 28 | 219 | 15,928 | 0,762% |
| 2 | Kaninchen, 5 Tage alt. | 460 | | 5 | 1,0 | 461 | 6 | 4 | 0,86 | 693 | | 5 | 0,72 | 0,28% |
| 3 | Kaninchen, 12 Tage alt. | 1280 | 9 | 14 | 1,093 | 1081 | 7 | 11 | 1,02 | 1138 | 12 | 12 | 1,05 | 0,073% |
| 4 | Kaninchen, 21 Tage alt. | 1356 | 18 | 68 | 5,015 | 1248 | 11 | 54 | 4,488 | 1578 | 5 | 72 | 4,563 | 0,527% |
| 5 | Kaninchen, ♀ ungef. 2 Jahre alt. | 706 | 11 | 143 | 20,27 | 794 | 18 | 163 | 20,53 | 708 | 17 | 162 | 21,9 | 0,82% |
| 6 | Meerschweinchen, ♂ 5-6 Monate alt. | 3989 | 10 | 119 | 2,732 | 4194 | 15 | 140 | 3,338 | 4142 | 13 | 132 | 3,187 | 0,606% |
| 7 | Ziege, ♂ 3 Tage alt. | 3927 | 39 | 49 | 1,248 | 2771 | 18 | 39 | 1,407 | 2647 | 28 | 36 | 1,360 | 0,159% |
| 8 | Maulwurf, ♂ . | 2680 | 39 | 0 | 0 | 2524 | 40 | 0 | 0 | 2567 | 26 | 0 | 0 | 0% |

hat, kam bei seinen Untersuchungen an der weißen Maus zu demselben Ergebnis. Er fand in allen drei Lappen verhältnismäßig dieselbe Anzahl — etwa 20% — zweikerniger Zellen, was ich auf Grund eigener Untersuchungen (vgl. z. B. Tab. Ia, Nr. 6) bestätigen kann.

Aus den voranstehenden Ausführungen ergibt sich, daß im allgemeinen eine *bestimmte* Anzahl zweikerniger Zellen für jede Tierart charakteristisch ist. Eingehendere Untersuchungen lehren allerdings, daß auch bei derselben Tierart unter *besonderen* Bedingungen Schwankungen vorkommen. Daß dem *Alter* ein gewisser Einfluß zukommt, haben wir schon gesehen. Aber selbst bei annähernd gleichaltrigen Individuen kommen Unterschiede zur Beobachtung, für welche veränderte Lebensverhältnisse verantwortlich gemacht werden dürfen. In diesem Zusammenhang möchte ich die Beobachtung von *Alice Leonhard* (46) über den Einfluß der Jahreszeit auf die Leberzellen von *Rana temporaria* anführen. Sie fand nämlich Verschiedenheiten der Zellgröße in den verschiedenen Jahreszeiten in Abhängigkeit und im Zusammenhang mit der Ernährung. Die Leberzelle soll darnach einen Zyklus durchmachen, indem sie ihr größtes Volumen im Herbst, ihr geringstes im Frühjahr erreicht. *Zweikernige Zellen* fanden sich nur *selten*, und es verdient vielleicht doch hervorgehoben zu werden, daß ihr Vorkommen gerade bei der *Juli-Leber* erwähnt wird. Außerdem fielen an Präparaten aus diesem Monat besonders *große Kerne* auf, was in Zusammenhang mit der Neubildung von Leberzellen gebracht wird.

Zur eigenen Untersuchung wurde die Leber von *Talpa europaea* gewählt, da mir gerade davon einige Exemplare aus verschiedenen Jahreszeiten zur Verfügung standen, und weil bei diesem Tier — in Zusammenhang mit der Jahreszeit — zyklische Veränderungen an anderen Organen bekannt sind; ich erinnere an die Befunde an den Keimdrüsen [*Regaud* (64), *Tandler* und *Grosz* (71), *Kohn* (39)] und den Nebennieren [*W. Kolmer* (41)].

Es wurden acht Tiere untersucht, und zwar je eines vom Februar und März, zwei aus dem Monat Juli, je eines vom August und Oktober und endlich zwei vom Dezember. Vorausschicken muß ich, daß der Maulwurf überhaupt *sehr wenig* zweikernige Leberzellen besitzt. Ich habe sogar bei drei Tieren *nicht* eine einzige gefunden. Der folgenden Tabelle (Tab. V) ist zu entnehmen, daß die beiden im Dezember eingebrachten Tiere 0,173% und 0,107% besaßen, während von zwei Sommertieren das eine aus dem Monat Juli 0,0195%, das andere vom August aber 0,818% aufwies. Das Tier aus dem Monat Februar aber zeigte 0,0845%, aus dem Monat März 0,242% und aus dem Oktober 0%. Aus den angegebenen Zahlenwerten ist ein leichter Anstieg im Frühjahr erkennbar; doch reichen die Befunde nicht aus, um die Annahme zu erweisen, daß bei freilebenden

Tieren die zweikernigen Leberzellen im Sommer vermehrt sind, zumal das *Alter* der Tiere nicht mit Sicherheit festgestellt werden konnte. Jedoch sprechen manche Anzeichen dafür, daß das August-Tier mit dem größten Prozentsatz zweikerniger Zellen erwachsen war, während mir das Juli-Exemplar als junges Tier bezeichnet wurde.

Tabelle V. Die Zweikernigkeit der Leberzellen von *Talpa europaea* während verschiedener Jahreszeiten.

| Nr. | Jahreszeit, Geschlecht | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon groß-kernige Zellen | davon zwei-kernige Zellen | zwei-kernige Zellen in o/o | groß-kernige Zellen in o/o | Anmerkung |
|-----|--|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------|
| 1 | 7. II. 1913 Geschlecht? | 4730 | 6 | 4(+1 fragliche Zelle) | 0,0845 | 0,13 | |
| 2 | 5. III. 1913 Geschlecht? | 4132 | 0 | 10 | 0,242 | 0 | |
| 3 | Juli, ♂ | 3670 | 52 | 0 | 0 | 1,41 | |
| 4 | Juli, 1921 Geschlecht? (junges Tier) | 5105 | 3 | 1 | 0,0195 | 0,058 | |
| 5 | 8. VIII. 1919 | 2567 | 35 | 21 | 0,818 | 1,363 | |
| 6 | 28. X. 1914, ♂ | 4345 | 2 | 0 | 0 | 0,046 | |
| 7 | 15. XII. 1920, ♂ (junges Tier) | 4057 | 16 | 7 | 0,173 | 0,394 | |
| 8 | 30. XII. 1912 (Geschlecht?) | 3723 | 16 | 4 | 0,107 | 0,43 | |

Läßt diese Untersuchung über Beziehungen der Zweikernigkeit zur Jahreszeit bei freilebenden Tieren (vielleicht wegen des ungeeigneten Untersuchungsobjektes) keinen zwingenden Schluß zu, so erwies sich die andere Vermutung, daß eine gewisse Abhängigkeit vom wechselnden Zustande der Fortpflanzungsorgane bestehe, als zutreffend.

Es fiel mir wiederholt auf, daß die höchsten Werte der Zweikernigkeit bei einer Tierspezies gravide und laktierende Weibchen betrafen. Man beachte z. B. die Zahlen von trächtigen Meerschweinchen (Tab. I a, Nr. 9) — und vergleiche sie mit denen vom Männchen (Tab. I a, Nr. 8) — vom trächtigen Ziesel (Tab. I a, Nr. 10), bei dem sich auch relativ viele dreikernige und vierkernige Leberzellen fanden. Man vergleiche ferner die Durchschnittszahl vom männlichen Igel, die 3,9% beträgt (Tab. I d, Nr. 3 u. 4) mit der beim laktierenden weiblichen Tiere gefundenen Zahl von 6,011% (Tab. I d, Nr. 2); von männlichen Hunden (durchschnittlich 5% [Tab. I g, Nr. 4]) mit den hohen Werten von 11% bei einem laktierenden weiblichen Hunde, (Tab. I e, Nr. 7).

Diese Erscheinung findet sich jedoch nur bei *manchen* Tierspezies, durchaus nicht allgemein. Ich vermißte sie beispielsweise beim Rinde (vgl. Tab. I b, Nr. 1—4); bei zwei trächtigen Kühen konnte ich keine Zunahme der Zweikernigkeit bemerken.

Wenn somit schon aus meinen früheren Tabellen hervorzugehen scheint, daß im allgemeinen die Zahl der zweikernigen Zellen bei weiblichen Tieren und insbesondere bei trächtigen oder säugenden Weibchen größer sei als bei den Männchen, so schien es doch wünschenswert, diese Frage in einer besonderen Untersuchungsreihe nachzuprüfen. Dazu benützte ich Meerschweinchen, von denen leicht Exemplare aller Art zu beschaffen waren. Das Ergebnis ist auf der folgenden Tabelle dargestellt:

Tabelle VI. *Der Einfluß des Geschlechtes und besonders der Gravidität auf die Zweikernigkeit des Leberzellen beim Meerschweinchen.*

| Nr. | Geschlecht, Alter | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon groß- kernige Zellen | davon zwei- kernige Zellen | zwei- kernige Zellen in % | groß- kernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|--|-----------------------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|------------------------------------|---------------------------|
| 1 | ♂, Alter? 15. V. 1921 | 5241 | 23 | 188 | 3,587 | 0,439 | eine dreikernige Zelle |
| 2 | ♂, mindestens 2 Jahre alt, 780 g schwer, 28. VII. 1921 | 3753 | 17 | 230 | 6,128 | 0,453 | |
| 3 | ♂, über 2 Jahre alt, 620 g schwer, 4. VIII. 1921 . . . | 5047 | 19 | 233 | 4,616 | 0,376 | |
| 4 | ♂, über 2 Jahre alt, 680 g schwer, 16. IX. 1921 . . . | 5461 | 35 | 318 | 5,823 | 0,659 | |
| 5 | ♀, jung, gravid (Be- ginn), 15. V. 1921 | 4028 | 12 | 209 | 5,188 | 0,298 | |
| 6 | ♀, jung, gravid, 15. V. 1921 . . . | 4003 | 21 | 286 | 7,144 | 0,524 | |
| 7 | ♀, etwa 6 Monate alt, gravid. 7. VII. 1921 | 4565 | 40 | 316 | 6,922 | 0,876 | |
| 8 | ♀, laktierend, 7. VII. 1921 . . . | 4378 | 61 | 415 | 9,479 | 1,392 | |
| 9 | ♀, über 2 Jahre alt, drei- bis viermal geworfen, etwa 5 Tage post par- tum, 570 g schwer | 5224 | 21 | 485 | 9,284 | 0,402 | |
| 10 | ♀, über 2 Jahre alt, 4 Wochen post partum, 550 g schwer, 18. VIII. 1921 | 4217 | 17 | 405 | 9,604 | 0,403 | |

Wenn man in Tab. VI z. B. Nr. 1 und 5 vergleicht — es handelt sich um annähernd gleichaltrige Tiere von 5–6 Monaten —, so fällt der Unterschied sofort auf. Das Männchen zeigt 3,587% zweikernige Zellen, das gravide Weibchen 5,188%, zwei weitere gravide Weibchen

(Nr. 6 u. 7) hatten 7,144% und 6,922%. Oder man vergleiche ältere Tiere, deren Alter auf mindestens 2 Jahre geschätzt wurde: Drei männliche (Nr. 2, 3 und 4) mit 6,128%, 4,616%, 5,823% und ein ungefähr gleichaltriges laktierendes Weibchen (Nr. 8), dessen Leber 9,479% enthielt und somit auch das in Tab. III b, Nr. 6 angeführte alte Männchen mit der ungewöhnlich hohen Zahl von 8,4% noch übertraf. Da es wünschenswert erschien, nachzuprüfen, ob die Zweikernigkeit bei den Weibchen nach dem Wurf wieder zurückgeht, wurden zwei Tiere in verschiedenen Zeiträumen getötet, das erste, Nr. 9, ungefähr 5 Tage, das andere (Nr. 10) genau 4 Wochen nach dem Wurf. Der Prozentsatz betrug bei dem ersteren 9,284%, bei dem zweiten 9,604%. Es kann daher von einer Verminderung der zweikernigen Zellen, wenigstens nach so kurzer Zeit, nicht gesprochen werden.

Jedenfalls lehren diese Beobachtungen, daß die Zweikernigkeit beim weiblichen *graviden* und *laktierenden* Meerschweinchen häufiger ist als beim männlichen, was doch wohl nur in Zusammenhang mit den besonderen Umständen gebracht werden kann.

Während dieser Untersuchung erhielt ich erst Kenntnis von der Arbeit *Koutchouks* (43), der für das männliche Meerschweinchen 9,88% zweikerniger Zellen als Normalwert angibt. Dieser große Mehrbetrag gegenüber den von mir gefundenen Zahlen ist entweder darauf zurückzuführen, daß die Tiere des russischen Autors älter, — oder, — was ich für wahrscheinlicher halte — in besonderer Weise ernährt waren. Die Abhängigkeit der Zweikernigkeit von der Beschaffenheit der *Nahrung* hat schon *Arapow* (2) zahlenmäßig festgestellt, und ich kann sie speziell für das Meerschweinchen nach eigenen Versuchen bestätigen. Tatsächlich betont *Koutchouk* selbst, daß seine Versuchstiere eine »gute Nahrung« erhielten, während die meinen ausschließlich mit Gras und Rübe gefüttert worden waren¹⁾.

Von den Rindern (Tab. I b, Nr. 1—4) fand ich die größte Zahl zweikerniger Leberzellen bei einem Ochsen, und dieser Befund veranlaßte mich, nachzusehen, ob vielleicht die *Kastration* einen Einfluß auf die Zweikernigkeit ausübe. Die in dieser Richtung angestellte Untersuchung an zwölf Individuen verschiedenen Alters und Geschlechtes brachte die Bestätigung für das Rind. (Vgl. Tab. VII.)

¹⁾ In der Publikation (S. 75) heißt es wörtlich: »Ces animaux ont été mis en observation dans le laboratoire pendant 11 jours, et ils recevaient une bonne nourriture (betterave, carotte, avoine, foin, eau) . . . Nous avons constaté que pendant cette période tous les cobayes ont gagné du poids . . .« Es ist daher der Prozentsatz von 9,88% mit Sicherheit als Ergebnis der 11 Tage dauernden reichlichen Fütterung anzusehen, infolge deren die Tiere bis zu 10% des Körpergewichtes zunahmen, eine Gewichtsvermehrung, die wohl bei gewöhnlicher Nahrungsaufnahme in dieser Zeit nicht erreicht wird.

Tabelle VII. Der Einfluß der Kastration auf die Zweikernigkeit der Leberzellen beim Rind.

| Nr. | Geschlecht, Alter | Gesamtzahl gezählter Zellen | davon groß-kernige Zellen | davon zwei-kernige Zellen | zwei-kernige Zellen in % | groß-kernige Zellen in % | Anmerkung |
|-----|---|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|--|
| 1 | ♂ (Stier) 4 Jahre alt, 13. VI. 1921. | 7308 | 306 | 180 | 2,463 | 4,187 | fünf Kerneinschnürungen auffallend ist die Lokalisation der Kerne an der Blutgefäßseite! |
| 2 | ♂ (Stier) 3—4 Jahre alt, April 1921. | 3030 | 76 | 78 | 2,57 | 2,50 | |
| 3 | ♀ (Kalbin) 1 Jahr alt, 14. IX. 1921. | 4767 | 211 | 48 | 1,007 | 4,426 | eine Kerneinschnürung |
| 4 | ♀ (Kalbin) 2 Jahr alt, Juli 1921. | 4934 | 164 | 93 | 1,885 | 3,323 | |
| 5 | ♀ (Kuh) 8—9 Jahre alt, fünf-bissechsmal gekalbt; zuletzt vor 5½ Monaten, 21. VII. 1921. | 6266 | 334 | 165 | 2,633 | 5,33 | |
| 6 | ♀ (Kuh) 18 Jahre alt, 24. IV. 1921. | 5113 | 316 | 116 | 2,268 | 6,18 | |
| 7 | ♀ (Kuh) 20 Jahre alt, 13mal gekalbt; zuletzt vor 1 Jahr, Juli 1921. | 4539 | 167 | 113 | 2,489 | 3,679 | eine Kerneinschnürung, ein Diasterstadium! |
| 8 | ♀ (Kuh) 6 Jahre alt; gravid etwa 5. Monat. | 4671 | 114 | 84 | 1,798 | 2,44 | |
| 9 | ♂ (Ochs) 15 Mon. alt, 25. IX. 1921. | 4795 | 198 | 141 | 2,940 | 4,337 | |
| 10 | ♂ (Ochs) 30 Mon. alt, 24. IX. 1921. | 4435 | 200 | 169 | 3,810 | 4,509 | |
| 11 | ♂ (Ochs) 4 Jahre alt, 13. VI. 1921. | 6895 | 243 | 303 | 4,394 | 3,524 | |
| 12 | ♂ (Ochs) 4 Jahre alt | 4491 | 164 | 192 | 4,276 | 3,651 | |

Männliche und weibliche Rinder haben ungefähr die gleiche Anzahl zweikerniger Leberzellen. Bei zwei Stieren (Nr. 1 und 2) ergaben sich Werte von 2,463%, bzw. 2,57%. Drei Kühe (Nr. 5, 6, 7) hatten 2,633%, bzw. 2,268% und 2,489%. Daß der Gravidität hier kein Einfluß zukommt, wie schon früher erwähnt, zeigt der Befund bei einer graviden Kuh (Nr. 8) mit 1,798%.

Hingegen fand ich eine deutliche Vermehrung nach Kastration. Man merkt diesen Unterschied schon bei jungen Tieren. Der Vergleich zweier 12 und 18 Monate alten weiblichen Tiere (Nr. 3 und 4) mit zwei Ochsen von 15 und 30 Monaten ergab, daß die weiblichen

Tiere 1,007% und 1,885%, die Kastraten 2,940% und 3,810% doppelkerniger Leberzellen besaßen. Bei zwei 4jährigen Ochsen dagegen berechnete ich 4,394% und 4,276%. Daraus darf man wohl schließen, daß beim Rinde die Kastration zu einer Vermehrung der zweikernigen Leberzellen führt.

Wie sehr man sich aber vor allgemeinen Schlußfolgerungen hüten muß, lehrt der Umstand, daß beim Pferde (vgl. Tab. Ic, Nr. 1—3) eine solche Vermehrung nach Kastration nicht nachzuweisen war.

Schließlich soll noch die Frage nach dem Zustandekommen der Zweikernigkeit besprochen werden. Zwei Möglichkeiten kommen hierfür in Betracht, Mitose und Amitose. In der einschlägigen Literatur findet man darüber folgende Angaben:

Im Jahre 1881 hat *Pfitzner* (58) in der erwachsenen Säugetier- und Amphibienleber Teilungsfiguren gefunden. Doch bemerkt schon *Flemming*¹⁾ dazu: »Es muß aber noch fraglich genannt werden, ob hier und in vielen anderen erwähnten Geweben die indirekte Teilung allein oder überhaupt für die Mehrkernigkeit ins Spiel kommt, da die Beteiligung der direkten hierbei nicht auszuschließen ist.«

Im Gegensatz zu *Pfitzner* hebt *M. Nussbaum* (53) die Seltenheit mitotischer Teilungsfiguren in den Leberzellen hervor.

Während in dem wachsenden Organ — nach *Bizzozero* und *Vassales* Untersuchungen (9) an einem Rinderfetus, einem 5 Tage alten Kätzchen und einem Meerschweinchen von 2 Tagen — die Mitosen »überaus zahlreich« sind, werden sie in der reifen Leber »außerordentlich selten«.

Amitosen hat zum ersten Male meines Wissens *Nauwerck* (52) in der menschlichen Leber beschrieben und in der Amitose den Ausdruck eines regenerativen Geschehens erblickt. Dann veröffentlichte *Frohmann* (25) eine Reihe von Abbildungen verschieden gestalteter Leberzellkerne, polymorphe Kerne bis zur vollständigen Kernzerschnürung, die er sehr ausführlich beschreibt. Die Amitose stellt nach ihm eine progressive Form der Teilung dar.

Später hat besonders *F. Reinke* (65) die direkte Kernteilung zur Erklärung der Zweikernigkeit der Leberzellen herangezogen.

Ellenberger (20) berichtet in seinem Handbuch der vergleichenden mikroskopischen Anatomie der Haussäugetiere, daß er niemals Karyokinesen in der Leber gesehen habe. Er selbst und *Baum* (21) nahmen früher »eine Keimbildung der Kerne mit Zellauffrischung« an, konnten jedoch »den zwingenden Beweis für diese Annahme nicht liefern«. Er sagt weiter, daß er »biskuitförmige Kerne gesehen, auch zwei kleine

¹⁾ *Flemming*, Zellsubstanz usw. S. 337 (s. Literaturverz. Nr. 23).

Kerne dicht nebeneinander, überhaupt Bilder, die man auf eine direkte Kernteilung zurückführen, aber auch anders erklären kann«.

Die ältere Literatur über das Vorkommen von Karyokinesen und Amitosen bis zum Jahre 1885 findet man überdies bei *Podwyssozki* (60) angeführt; eine Zusammenstellung der neueren mit besonderer Berücksichtigung der Befunde beim Menschen gab *Heitzmann* (29). Dieser Autor beobachtete in einem Falle von Sublimatvergiftung in der Leber »recht häufig neben den Karyokinesen auch Figuren der direkten Kernteilung. Man kann so ziemlich alle Stadien der amitotischen Teilung verfolgen vom Beginn bis zur Teilung des Kerns«. Die Amitosen werden dabei als Regenerationserscheinungen aufgefaßt.

Im Lehrbuche der Histologie von *Szymonowicz* heißt es: »Die Leberzelle ist beim Menschen außerordentlich häufig zweikernig, der eine der Kerne färbt sich gewöhnlich viel intensiver und enthält größere Chromatinmassen als der andere. Ob diese Kernverdopplung durch direkte oder indirekte Teilung zustande kommt, ist noch nicht entschieden, jedenfalls findet man Mitosen in der Leber durchaus nicht selten.« Letztere Behauptung steht mit den meisten Angaben hierüber in Widerspruch und kann — physiologische Verhältnisse vorausgesetzt — auch von mir nicht bestätigt werden.

Auf Grund meiner eigenen Erfahrung kann ich zu dieser Frage etwa folgenden Standpunkt einnehmen, der sich vorwiegend auf Beobachtungen an Kaninchen, Meerschweinchen und Menschen stützt, von denen ich viele Exemplare — weit mehr als in dieser Arbeit Erwähnung fanden — zu untersuchen Gelegenheit hatte. Obwohl sich mit Bestimmtheit zeigen ließ, daß die Zweikernigkeit erst im extrauterinen Leben merklicher in Erscheinung tritt, so habe ich doch nur bei *Embryonen* und sehr jungen Tieren Mitosen in den Leberzellen angetroffen (vgl. Tab. IIIa, Nr. 2, 5, 8; Tab. IIIc, Nr. 2; Tab. III d, Nr. 1, 2, 3). Bei erwachsenen Tieren wurde nur ein einziges Mal eine karyokinetische Figur (bei einem 4 Jahre alten Ochsen [Tab. VII, Nr. 11]) beobachtet, obwohl immer darauf geachtet wurde. Daß Mitosen in der Leber sehr selten sind, geht auch aus der oben erwähnten Mitteilung *Ellenbergers* hervor.

Die *experimentelle* Erzeugung von Mitosen in Leberzellen — ich erinnere an die klassischen Versuche *Ponficks* (61) über Leberregeneration — spricht ebensowenig für die Mitose als Entstehungsmodus der Zweikernigkeit wie der gelegentlich selbst beim Menschen erhobene Befund karyokinetischer Figuren unter pathologischen Bedingungen, speziell nach Infektionen (Pocken, Typhus, Cholera) und Vergiftungen (Sublimat). Denn in allen *diesen* Fällen handelt es sich doch wohl immer um eine *Zellvermehrung*, nicht um eine bloße *Kernvermehrung*. Daß aber die Zellvermehrung auf dem Wege der Mitose

erfolgt, wie *Ponfick* und viele nach ihm gezeigt haben, stimmt mit den Beobachtungen an der wachsenden Leber (von Embryonen und jungen Tieren) überein, die von *Bizzozero* und *Vassale* und mir selbst erhoben wurden.

Schließt man aber die Mitose für das Zustandekommen der Zweikernigkeit aus, so kommen zwei Möglichkeiten dafür in Betracht, Kernzerschnürung oder freie Kernbildung. Unter Kernzerschnürung versteht man jenen Vorgang, den *Arnold* (3)¹⁾ speziell als »direkte Segmentierung« und »direkte Fragmentierung« beschrieb und wofür heute allgemein die Bezeichnung »Amitose« gebräuchlich ist. An die zweite Möglichkeit, daß aus dem vorhandenen einfachen Kerne Substanzen in den Zelleib austreten könnten, die sich vereinigen und als ein neuentstandener, zweiter Kern gegen das Cytoplasma abgrenzen, haben wohl zuerst *Ellenberger* und *Baum* gedacht.

Doch scheinen folgende Beobachtungen mehr zugunsten der *Amitose* zu sprechen:

1. Es fanden sich in fast allen Lebern von jungen und erwachsenen Tieren Kernformen, die man unbedenklich als Zerschnürungsbilder bezeichnen darf: längliche Kerne mit einseitiger *Einbuchtung* (nierenförmige Kerne), hantelförmige Kerne bis zu Formen, die unmittelbar vor der vollständigen Durchtrennung zu stehen schienen.

2. Die fast immer gleiche Größe beider Kerne — wie man sie bei Säugetieren zumeist beobachtet — läßt sich ebenfalls durch »Kernhalbierung« viel ungezwungener erklären als durch sog. »freie Kernbildung«.

3. Endlich spricht auch der Umstand, daß die beiden Kerne häufig unmittelbar aneinander grenzend angetroffen werden, mehr für die *Amitose*.

¹⁾ *Arnold* (3) bezeichnete ursprünglich als »Segmentierung« jenen Vorgang, bei dem »eine Spaltung der Kerne in der Äquatorialebene oder Segmentalebene in zwei oder mehrere nahezu gleiche Teile« erfolgt im Gegensatz zur »Fragmentierung«, wobei eine Abschnürung der Kerne an beliebigen Stellen in zwei oder mehrere gleiche, häufiger ungleiche Kernabschnitte, »welche nicht durch regelmäßige Teilungsflächen sich abgrenzen«, stattfindet. Bei jedem dieser Vorgänge wurde noch eine »direkte« und »indirekte« Form unterschieden, je nachdem *ohne* oder *mit* »Zunahme und veränderter Anordnung der chromatischen Kernsubstanz«. Nach diesem Schema käme für die Genese der Zweikernigkeit nur die direkte Segmentierung in Betracht; denn über diesen Modus sagt *A.* selbst: »Über die Vorgänge der *direkten Segmentierung* haben wir uns die Vorstellung zu machen, daß ein heller bläschenförmiger Kern, ohne eine Veränderung in seiner Form und in der Anordnung der chromatischen Substanz zu erfahren, in der Äquatorialebene oder in den Segmentalebenen in zwei oder mehrere nahezu gleiche Teile zerlegt werden«. Später (Literaturverz. Nr. 4) hat *Arnold* die Segmentierung der Mitose und die Fragmentierung der Amitose nahezu gleich gestellt.

Meine bisherigen Ergebnisse lassen sich kurz in folgender Weise zusammenfassen:

1. Zweikernigkeit der Leberzelle kommt bei verschiedenen Wirbeltierklassen vor. Sie ist jedoch vor allem charakteristisch für die Leber der Säugetiere, bei denen der Gehalt an zweikernigen Zellen durchschnittlich 1—20% beträgt.

Der Prozentsatz zweikerniger Zellen ist für jede Spezies der Säugetiere ziemlich konstant; die höchsten Werte fanden sich bei Nagetieren (Kaninchen 20%), der Mensch steht mit ungefähr 10% in der Mitte.

Die Anzahl zweikerniger Zellen ist in allen Leberabschnitten die gleiche.

Von den niederen Vertebraten haben die Amphibien einen beträchtlicheren Prozentsatz (durchschnittlich 0,3—0,6%).

2. Drei- und mehrkernige Leberzellen finden sich bei normalen, gesunden Tieren nur selten; ihr vermehrtes Vorkommen zählt zu den Ausnahmen.

3. Es ist unrichtig, daß zwei- und mehrkernige Leberzellen öfters bei Embryonen vorkommen als bei erwachsenen Tieren; im Gegenteil, es ist die Zweikernigkeit embryonaler Leberzellen eine seltene Erscheinung. Neugeborene Tiere besitzen — im Gegensatz zu Köllikers Angaben — nur spärlich zweikernige Leberzellen.

Nach der Geburt bleibt ihre Zahl durch einige Zeit fast unverändert, nimmt dann allmählich zu, um endlich mit vollendetem Wachstum das Maximum zu erreichen.

4. In der Leber einer Ratte waren die zweikernigen Zellen in der Umgebung der Vena centralis gehäuft, was ich gelegentlich auch in menschlichen Lebern beobachten konnte.

Bei der Eidechse und einigen Säugetieren lag der Kern wandständig, in der Nähe der Blutkapillaren.

In den zweikernigen Leberzellen färbt sich manchmal der eine Kern mit basischen, der andere mit sauren Farbstoffen, oder der eine stärker als der andere.

5. Die Zahl zweikerniger Zellen scheint in den verschiedenen Jahreszeiten etwas zu schwanken.

Nach den Untersuchungen am Meerschweinchen und Rind besteht auch eine Beziehung zur Geschlechtssphäre. Bei ersterem ist die Zahl zweikerniger Leberzellen in der Gravidität vermehrt, beim Rind war eine deutliche Zunahme nach Kastration nachweisbar.

6. Die Zweikernigkeit der Leberzelle kommt — wie frühere Untersuchungen und meine eigenen wahrscheinlich machen — durch Kernzerschnürung (Amitose) zustande.

III.

Handelt die bisherige Darstellung ausschließlich von der Zweikernigkeit der Leberzelle, so seien hier einige Bemerkungen über eine andere Art der Zweikernigkeit eingeschaltet, aus deren Gegenüber-

stellung mit jener ein Unterschied klar werden soll, der mir beachtenswert erscheint. Untersucht man — wie im vorhergehenden Kapitel gezeigt wurde — die Kaninchenleber auf das Vorhandensein zweikerniger Zellen, so ergibt sich, daß diese dem embryonalen Organ fast ganz fehlen, erst nach der Geburt allmählich reichlicher auftreten und beim erwachsenen Tier in einer bestimmten Verhältniszahl regelmäßig gefunden werden.

Ich hebe diese Tatsache gerade vom Kaninchen hervor, weil dieses Tier noch in einem anderen Organsystem zahlreiche zweikernige Zellen besitzt, nämlich in den Ganglien des Sympathicus, eine Tatsache, die schon von *Remak* beobachtet wurde.

Während aber die Zweikernigkeit in der Leber erst mit dem Abschlusse des Wachstums voll ausgebildet erscheint, sind die sympathischen Ganglienzellen des Kaninchens schon in sehr früher Embryonalzeit zweikernig. Das geht aus einer Untersuchung von *H. Apolant* (1) hervor, in der es heißt, daß sich zweikernige Zellen weit in das embryonale Leben zurück verfolgen lassen. Auch *A. Kohn* (38), welcher der Entwicklung des Sympathicus beim Kaninchen eine eigene Untersuchung widmete, konnte zeigen, daß die Zweikernigkeit der sympathischen Ganglienzellen bereits bei 3 Wochen alten Feten zur Norm gehört.

Der Befund war ein so auffallender, daß *Kohn*, dem es doch lediglich auf die Entwicklung des Sympathicus ankam, ausdrücklich hervorhebt: »Bei *Kaninchenembryonen von 23 Tagen* ist eine größere Anzahl von Zellen auch des Grenzstranges zu typischen Ganglienzellen herangewachsen. Auch durch das dem Sympathicus einiger Nager eigentümliche Merkmal der *Zweikernigkeit* sind viele von ihnen ausgezeichnet. Ebenso sind in den Geflechten ventral an der Bauchaorta viele zweikernige Ganglienzellen aufzufinden«¹⁾.

Ein Vergleich dieser beiden Arten zweikerniger Zellen zeigt, daß zwischen ihnen ein wesentlicher Unterschied besteht. Während die

¹⁾ Dem Einwand, daß dieses Auftreten der Zweikernigkeit immerhin einer ziemlich späten Entwicklungsstufe angehört, ist entgegenzuhalten, daß sich der Sympathicus beim Kaninchen überhaupt erst spät entwickelt und, wie *Kohn* hervorhebt, »die Differenzierung der Elemente im Sympathicus relativ spät einsetzt«.

Die ersten Ansätze der Sympathicusanlage finden sich — nach *Kohn* — bei *Kaninchenembryonen von 11 Tagen und 6 Stunden*; bei 16 Tage alten Embryonen *beginnt* eine Differenzierung von Ganglien- und Mantelzellen. »Weit- aus die Mehrzahl der Zellen ist auch bei *Embryonen von 19 Tagen* noch auffallend klein und verrät nichts von der künftigen Bestimmung. Nur an wenigen ist überhaupt ein Zelleib deutlich wahrzunehmen, und ganz vereinzelt sind diejenigen, welche man bestimmt als kleine Ganglienzellen ansprechen konnte. Die mitotische Zellvermehrung ist noch immer nicht abgeschlossen« (*Kohn*, l. c. S. 292).

Zweikernigkeit der sympathischen Ganglienzellen als ein *phylogenetisch* erworbenes Merkmal aufgefaßt werden kann, das automatisch schon in der Embryonalzeit regelmäßig in Erscheinung tritt, stellt die der Leberzellen einen *ontogenetischen* Erwerb dar. Die Zweikernigkeit der sympathischen Ganglienzellen ist angeboren, die der Leberzellen wird erst im Laufe des Lebens erworben. Den Leberzellen wird nicht die Zweikernigkeit an sich, sondern nur die Anlage zur Zweikernigkeit vererbt, zu deren Auslösung es erst noch gewisser Faktoren bedarf, die bei der spezifischen Tätigkeit und unter den besonderen Lebensbedingungen der funktionierenden Zelle wirksam werden. Daraus erklärt es sich auch, daß die Zweikernigkeit der Leberzelle durch Veränderung der maßgebenden Bedingungen abgeändert und insbesondere gesteigert werden kann, was ich in einer zweiten Mitteilung darzulegen beabsichtige, für welche die vorliegende Untersuchung die Grundlagen schaffen sollte.

Für die Möglichkeit, daß die funktionelle Beanspruchung der Zelle unter gewissen Bedingungen zu Kernveränderungen und auch zur Zweikernigkeit führen könne, spricht die große Rolle, die dem Kern für die zellulären Lebensvorgänge zugeschrieben wird. In neuerer Zeit mehren sich die Angaben, daß dem Kern eine wichtige Bedeutung nicht nur für die Zellerhaltung und Zellvermehrung, sondern auch für die Zellfunktion zukomme. »Das Wechselverhältnis von Kern- und Protoplasma« — sagt schon R. Hertwig (34) — »äußert sich im Leben des Organismus bei zwei Gelegenheiten, bei den physiologischen Leistungen der Zelle, der *Zellfunktion*, und bei der *Zellteilung*. Ist diese Beteiligung z. B. bei der Zellvermehrung ganz evident, so scheint sie bei den gewöhnlichen Stoffwechselvorgängen, bei Assimilation und Dissimilation, nicht so leicht »morphologisch« nachweisbar. Und dennoch haben wir allen Grund, auch hierbei im Zellkern einen wesentlichen Faktor vitalen Geschehens innerhalb der Zelle zu erblicken.

Diese Anschauung gewinnt immer mehr an Boden. Wir wissen, daß bestimmten Zellformen bestimmte Kernformen entsprechen, wir wissen ferner seit R. Hertwig (34, 35), daß für jede Zellart ein bestimmtes Verhältnis zwischen Kern- und Zellmasse besteht, für welches dieser Forscher die Bezeichnung *Kernplasmarelation* eingeführt hat. Diese Wechselwirkung zwischen Kern- und Cytoplasma, die anzunehmen wir allen Grund haben, wird insbesondere bei Zellen mit gesteigertem Stoffumsatz — wie sekretorischen Zellen — in erhöhtem Maße zum Ausdruck kommen. Da aber für solche Wirkungen zweifellos der *Kernoberfläche* eine wichtige Bedeutung zukommt, erscheint es notwendig, der *Beziehung von Kernoberfläche und Cytoplasma* besondere Aufmerksamkeit zuzuwenden.

Ich glaube, daß die Größe der Kernoberfläche von wesentlichem Einfluß für die Lebenstätigkeit der Zelle ist, so daß es mir zweckmäßig erscheint, neben der gewöhnlichen *Kernplasmarelation* (der Masse) auch das Oberflächenverhältnis von Kern und Plasma, die *Kernoberflächenplasmarelation*, wie ich es nennen will, mehr als bisher zu beachten. Die *normale* Kerngröße, bzw. Kernform und Kernoberfläche entspricht den normalen Lebensbedingungen der Zelle. Wenn sich aber die Lebensbedingungen andauernd verschlechtern oder übermäßige Leistungen aufgebracht werden müssen, dann kommt es häufig zur Vergrößerung der Kernoberfläche, welche demnach einen Regulationsvorgang darstellt.

Um das klarzumachen, braucht man sich nur vorzustellen, daß *ohne* Veränderung der Kernplasmarelation (hinsichtlich des Massenverhältnisses) die Oberflächenrelation einfach durch Formveränderung des Kernes eine Verschiebung erfahren kann. Man vergleiche etwa das bekannte Bild eines rundkernigen Myelozyten mit einem gelapptkernigen Leukozyten und wird ohne weiteres zugeben, daß durch die Lappung des Kernes eine Oberflächenvergrößerung erzielt wurde. Die Ursache solcher Kernoberflächenvergrößerungen ist wahrscheinlich in einer Veränderung der Lebensbedingungen der Zelle zu suchen.

Die Umstände, welche die Lebensbedingungen der Zelle verschlechtern, können verschiedenartig sein: ungünstige Ernährungsverhältnisse (große Entfernung von den ernährenden Blutkapillaren; minderwertiges sauerstoffarmes Blut), Verringerung des lebendigen Protoplasmas (durch Einlagerung passiver Substanzen wie Fett, Sekrete), kurz alle Störungen des normalen Gleichgewichtes im Haushalte der Zelle. So wird es verständlich, daß die oberflächlichen Zellen geschichteter Epithelien — weitab von der Blutzufuhr — oft mehrkernig erscheinen, daß Fettzellen häufig zwei Kerne enthalten, daß Leukozyten »polynukleär« werden usw. *Garnier* (26) berichtet von einer Vergrößerung des Zellkernes in den mit Sekret gefüllten Drüsenzellen; selbst amitotische Kernteilung wurde von ihm während der Tätigkeit beobachtet.

Ich selbst kann die Befunde *Loukianows* (48) und *Arapows* (2), welche bei weißen Mäusen nach Fütterungsversuchen vergrößerte Leberzellkerne beobachtet haben, bestätigen.

Die Änderung der Kernoberflächenrelation kann daher allgemein aufgefaßt werden als der *sichtbare Ausdruck eines Regulationsvorganges zur Erhaltung des Lebens und der Leistungsfähigkeit der Zelle bei übermäßiger Beanspruchung oder bei andauernder Verschlechterung der Lebensbedingungen*.

Sie fällt damit in *W. Roux'* Prinzip der Selbstregulation aller Lebensvorgänge (65a).

Diese Vorstellung wollen wir nun zur Erklärung der Zweikernigkeit der Leberzelle heranziehen. Es wurde erwähnt, daß die Zweikernigkeit wahrscheinlich durch Amitose zustande komme. Daß die Kernverdoppelung ohne nachfolgende Zellteilung eine Vergrößerung der Kernoberfläche bewirkt, ist klar. Wodurch aber soll die Kernoberflächenvergrößerung verursacht werden?

Die eigenartige Stellung, welche die Leber unter den anderen Drüsen in morphologischer und physiologischer Hinsicht einnimmt, ist hinlänglich bekannt. Sie unterscheidet sich in ihrer Entwicklung und in ihrem Bauplane von allen übrigen Drüsen und nicht zuletzt in ihrer besonderen Gefäßversorgung.

Die Leber arbeitet mit *sauerstoffarmem venösen* Blut, während sie in der embryonalen Zeit von *sauerstoffreichem* Blute gespeist wird. Die Geburt bedeutet für die Leber eine durchgreifende Änderung ihrer Ernährungsweise und ihrer funktionellen Leistungen.

Wie unsere Ausführungen — im Gegensatz zu denen früherer Beobachter — lehren, hat die embryonale Leberzelle meist nur einen Kern. In dem Verhältnis der Größe bzw. der Oberfläche dieses Kerns zu seinem Zellplasma haben wir eine bestimmte Konstante vor uns, die den Lebensverhältnissen der embryonalen Zelle angemessen ist. Nach der Geburt ändern sich aber die Lebensbedingungen der Leberzellen; von nun ab sind sie auf das venöse Blut der Pfortader angewiesen, und die Anforderungen an ihre Leistungsfähigkeit wachsen außerordentlich. So günstig die Zufuhr des *rohstoffreichen* venösen Pfortaderblutes für die Funktion der Leberzelle auch sein mag, für die einfachen primitiven Bedürfnisse der lebendigen Substanz, für das Eigenleben des Zellprotoplasmas, bedeutet der Ausfall an *sauerstoffreichem* Blute gewiß eine Verschlechterung. Überdies fällt der Leber nach der Geburt die Hauptaufgabe im chemischen Haushalte des Organismus zu; schon *Claude Bernard* nennt sie das chemische Zentrallaboratorium des tierischen Organismus. Als Folge der hier angedeuteten, geänderten Verhältnisse von Versorgung und Leistung stellt sich in vielen Zellen eine Änderung der Kernoberflächenplasmarelation ein. Um den gesteigerten Anforderungen bei verschlechterten Lebensbedingungen nachkommen zu können, *vergrößert* sich die Kernoberfläche. Das kann in verschiedenem Ausmaße und in verschiedener Weise vor sich gehen, je nach der Tierart, nach dem Grade und der Dauer der Beanspruchung, nach wechselnden Lebensbedingungen und läßt sich auch auf experimentellem Wege beeinflussen. So sehen wir als Zeichen der Kernoberflächenvergrößerung einmal eine Vergrößerung einzelner Kerne (beim Rind) oder Zerschnürungsformen bis zur vollkommenen Zweiteilung des Kernes.

Zwei Hauptfaktoren sind es demnach, die an der Erzeugung der Zweikernigkeit beteiligt sein dürften, die Änderung der Blutversorgung

und die gesteigerte Beanspruchung. Wäre der erstere *allein* maßgebend, so müßte z. B. schon die Leber eines *jungen* Kaninchens, die für diese Spezies typische Höchstzahl zweikerniger Zellen aufweisen, während wir doch sahen, daß ihre Zahl erst allmählich anwächst.

Es muß demnach noch ein anderer Faktor im Spiele sein, als welchen wir eben die spezifische intensive Stoffverarbeitung der Leberzelle ansehen. Man denke doch an die mannigfachen Leistungen, welche die Leberzellen vollbringen, an ihre Bedeutung für den Eiweiß- und Kohlehydratstoffwechsel, an alle ihre endokrinen und exokrinen Aufgaben.

Zum Schlusse mögen noch einige theoretische Bemerkungen allgemeiner Natur Platz finden. Wir haben schon früher einmal die Zweikernigkeit der Leberzellen mit der der Sympathicuszellen einiger Nager verglichen. Die Zweikernigkeit der sympathischen Ganglienzellen haben wir als ein morphologisches Merkmal hingestellt, das als solches vererbt wird und offenbar phylogenetisch erworben wurde. Welches aber das ursprüngliche auslösende Moment war, der »Originalreiz« nach R. Semon (68), das diese Zweikernigkeit hervorgerufen hat, liegt vollkommen im Dunkeln. Jedenfalls muß es zeitlich sehr weit zurückliegen, und wir wissen nur, daß *diese* Zweikernigkeit sehr konstant ist und automatisch bei der fortschreitenden Organdifferenzierung schon während des Embryonallebens in Erscheinung tritt.

Ganz anders verhält es sich mit der Zweikernigkeit der Leberzellen. Kommt diese auch bei vielen Tieren vor und ist eine bestimmte Verhältniszahl für die einzelne Spezies auch charakteristisch, so wird sie doch nicht als solche vererbt, sondern wird erst nach der Geburt im *funktionierenden Organ* offenbar und läßt sich durch Änderung der Lebensbedingungen auch experimentell unschwer beeinflussen.

Diese Ergebnisse erinnern einigermaßen an die Anschauungen neuerer Autoren über Konstitution und Kondition [Martius (49), Kraus (44), Tandler (70), F. Müller (51)]. Man könnte etwa sagen: Der Leberzelle wohnt die Fähigkeit zur Hervorbringung zweier Kerne inne. Nicht die Zweikernigkeit, sondern nur die Anlage dazu ist ihr angeboren. Zu ihrer Erweckung bedarf es auslösender Momente, die sich erst bei der funktionellen Inanspruchnahme des Organes geltend machen.

Mit den hier entwickelten Vorstellungen über das Zustandekommen der Zweikernigkeit der Leberzellen glaube ich die von mir gefundenen Tatsachen ungezwungen in Einklang bringen zu können, darunter insbesondere auch die Seltenheit zweikerniger *embryonaler* Leberzellen auch bei solchen Tieren, bei denen im *erwachsenen* Zustande reichliche Zweikernigkeit zur Norm gehört. Zur Norm insofern, als die reife Leberzelle schon physiologisch unter ganz eigenartigen Lebensbedingungen (mittels venösen Blutes) intensivste stoffliche Arbeit zu

leisten hat. Der Umstand aber, daß die Zweikernigkeit beeinflußbar ist (Trächtigkeit, Laktation und Kastration), und daß sie durch bestimmte Einwirkungen erheblich gesteigert werden kann, lehrt, daß sie nicht ein starr geprägtes morphologisches Merkmal, sondern eine *konditionell* bedingte Lebenserscheinung ist. Wenn aber, wie ich in einer folgenden Mitteilung zeigen werde, eine Steigerung der Zweikernigkeit durch Vermehrung der *ungünstigen* Faktoren herbeigeführt werden kann, dann darf man wohl auch schon die physiologische Zweikernigkeit als Folge erschwerter Arbeitsleistung und ungünstiger Lebensbedingungen auffassen, gewissermaßen als Ausdruck einer *physiologischen* Zellschädigung, und demnach die Zweikernigkeit der Leberzellen gleichsam als einen Grenzfall von Physiologischem und Pathologischem bezeichnen.

IV. Literaturverzeichnis.

1. *Apolant, H.*, Über die sympathischen Ganglienzellen der Nager. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 47. 1896. — 2. *Arapow, A. B.*, Contribution à l'étude des cellules hépatiques binucléaires. Arch. des sciences biolog. publiées p. l'Inst. Imp. de Med. Expér. à St. Pétersbourg. 1901. T. VIII. Fasc. 2. p. 184. — 3. *Arnold, J.*, Beobachtungen über Kerne und Kernteilungen in den Zellen des Knochenmarkes. Virchows Arch. Bd. 93. 1883 (S. 32 d. Sep.) — 4. *Ders.*, Über Teilungsvorgänge an den Wanderzellen, ihre progressiven und regressiven Metamorphosen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 30. 1887. — 5. *Asp, G.*, Zur Anatomie und Physiologie der Leber. Berichte über d. Verhandl. d. Königl. sächs. Gesellsch. d. Wiss. Math.-phys. Kl. Bd. 25. 1873. — 6. *Baum, H.*, Die morphologisch-histologischen Veränderungen in den ruhigen und tätigen Leberzellen. Deutsche Zeitschr. f. Tiermedizin u. vergl. Path. 1886. — 7. *Beale, L. S.*, On the ultimate arrangement of the biliary ducts and on some other points in the anatomy of the liver of vertebrate animals. Philos. Transact. 1856. Vol. 146. p. 375 (zitiert nach Budge). — 8. *Berg, W.*, Über funktionelle Leberzellenstrukturen. I. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 94. 1920. — 9. *Bizzozero, G.*, und *Vassale, G.*, Über die Erzeugung und die physiologische Regeneration der Drüsenzellen bei den Säugetieren. Virchows Arch. Bd. 110. 1887. — 10. *Böhm, A. A.*, und *Davidoff, M. v.*, Lehrbuch der Histologie des Menschen. 2. Aufl. Wiesbaden 1898. — 11. *Braus, H.*, Untersuchungen zur vergleichenden Histologie der Leber der Wirbeltiere. Jenaer Denkschriften. Bd. 5. 1896. — 12. *Browicz, T.*, Bau der intraacinosen Blutkapillaren und ihr Verhältnis zu den Leberzellen. Extrait du Bulletin de l'Acad. des Sciences de Cracovie. Mai 1900. — 13. *Ders.*, Die Beziehungen zwischen den intraacinosen Blutkapillaren und den intrazellulären Ernährungskanälchen der Leberzelle. Anat. Anz. Bd. 22. Nr. 7 u. 8. 1902. S. 158, 159. — 14. *Ders.*, Meine Ansichten über den Bau der Leberzelle. Virchows Arch. Bd. 168. 1902. — 15. *Budge, J.*, Über den Verlauf der Gallengänge. Arch. f. Anat. u. Physiol. 1859. — 16. *Chun, C.*, Über die Bedeutung der direkten Kernteilung. Schriften d. physikal.-ökonom. Gesellsch. in Königsberg i. Pr. XXXI. Jahrg. 1890. — 17. *Czerny, A.*, Über Rückbildungsvorgänge an der Leber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 35. — 18. *Eberth, C. J.*, Untersuchungen über die normale und pathologische Leber. Virchows Arch. Bd. 39. 1867. S. 90. — 19. *Ders.*, Untersuchungen über die Leber der Wirbeltiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 39. — 20. *Ellenberger, W.*, Die Leber. Im Handbuch d. vergl. mikroskop. Anat. d. Haustiere, herausgeg.

- v. W. Ellenberger. Bd. 3. Berlin 1911. S. 350, 352. — 21. Ellenberger u. Baum, Über die Erforschung der Lokalwirkungen der Arzneimittel durch das Mikroskop, über ruhende und tätige Leberzellen und über die *Remedia hepatica* s. *cholagoga*. Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilk. Bd. 13. 1887 (zitiert nach Ellenberger). — 22. Flemming, W., Zellsubstanz, Kern- und Zellteilung. Leipzig, F. C. W. Vogel. 1882. — 23. Ders., Über Teilung und Kernformen bei Leukozyten und über deren Attraktionsphären. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 37. 1891. S. 291. — 24. Frey, H., Handbuch der Histologie und Histochemie. Leipzig 1876. — 25. Frohmann, J., Über das Leberadenom mit Bemerkungen über Teilungsvorgänge der Leberzellen. Inaug.-Dissert. Königsberg 1894 (zitiert nach Heitzmann). — 26. Garnier, Contribution à l'étude de la structure et du fonctionnement des cellules glandulaires séreuses. Thèse de Nancy. 1899 (zitiert nach Koiransky). — 27. Gerlach, J., Handbuch der allgemeinen und speziellen Gewebelehre. Mainz 1854. — 28. Haberlandt, Über die Beziehung zwischen Funktion und Lage des Zellkernes bei den Pflanzen. Jena 1897 (zitiert nach O. Hertwig, Allgem. Biologie. Jena 1920). — 29. Heitzmann, St., Ausgedehnte Regenerationserscheinungen der Leber bei einem Fall von Sublimatvergiftung, mit besonderer Berücksichtigung der Mitosen und Amitosen. Zieglers Beitr. z. path. Anat. u. allg. Path. Bd. 64. 1918. — 30. Henle, J., Hufelands Journal 1838 (zitiert nach Henle, Nr. 33). — 31. Ders., Handbuch der systematischen Anatomie des Menschen. Braunschweig 1862. Bd. II. S. 200ff. — 32. Hering, E., Über den Bau der Wirbeltierleber. Zwei Mitteilungen an die Kais. Akad. d. Wiss. zu Wien v. 11. Mai u. 6. Dez. 1866. (Auch: Arch. f. mikr. Anat. Bd. 3. 1867). — 33. Ders., Von der Leber. In: Strickers Handbuch der Lehre von den Geweben des Menschen und der Tiere. Leipzig 1871. — 34. Hertwig, R., Über das Wechselverhältnis von Kern und Protoplasma. Sitzungsber. d. Gesellsch. f. Morph. u. Physiol. in München v. 4. Nov. 1902 u. 19. Mai 1903. S. 3ff. d. Separatabdr. — 35. Ders., Über Korrelation von Zell- und Kerngröße und ihre Bedeutung für die geschlechtliche Differenzierung und die Teilung der Zelle. Biolog. Zentralbl. Bd. 23. 1903. — 36. Kölliker, A., Einige Bemerkungen über die Resorption des Fettes im Darme, über das Vorkommen einer physiologischen Fettleber bei jungen Säugetieren und über die Funktion der Milz. Verhandl. d. physik.-med. Gesellsch. in Würzburg. Bd. VII. S. 181. 1856. — 37. Ders., Handbuch der Gewebelehre des Menschen. 5. u. 6. Aufl. Leipzig 1867. — 38. Kohn, A., Über die Entwicklung des sympathischen Nervensystems der Säugetiere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 70. 1907. — 39. Ders., Der Bauplan der Keimdrüsen. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 47. 1920. — 40. Koiransky, E., Über eigentümliche Gebilde in den Leberzellen der Amphibien. Anat. Anz. Bd. 25. 1904. — 41. Kolmer, W., Zur vergleichenden Histologie, Cytologie und Entwicklungsgeschichte der Säugernebenniere. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 91. 1918. — 42. Korschelt, Beiträge zur Morphologie und Physiologie des Zellkerns. Zool. Jahrb., Abt. f. Anat. Bd. 4. 1889. — 43. Koutchouk, K. A., Contribution à l'étude des cellules binucléaires. Archives des Sciences biolog. St. Pétersbourg. 1903. T. IX. p. 74. — 44. Kraus, F., Die Ermüdung als Maß der Konstitution. Bibliotheca medica. Cassel 1897. — 45. Krause, R., Beiträge zur Histologie der Wirbeltierleber. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 42. 1893. — 46. Leonhard, A., Über den Einfluß der Jahreszeit auf die Leberzellen von *Rana temporaria*. Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abt. 1884. Supplementbd. — 47. Leydig, Fr., Beiträge zur mikroskopischen Anatomie und Entwicklungsgeschichte der Rochen und Haie. Leipzig 1852. — 48. Loukianow, S. M., Sur les modifications du volume des noyaux des cellules hépatiques chez la souris blanche sous l'influence de l'inanition complète et incomplète, comparativement à l'alimentation normale. Première et deuxième communication. Arch. des Sci-

- ences biolog. à St. Pétersbourg. T. 6. No. 1 u. 2. 1897. — 49. *Martius, F.*, Konstitution und Vererbung in ihren Beziehungen zur Pathologie. Berlin, J. Springer, 1914. — 50. *Mayer, S.*, Adenologische Mitteilungen. Anat. Anz. Bd. 10. 1895. S. 182. — 51. *Müller, F.*, Konstitution und Individualität. München, J. Lindauer, 1920. — 52. *Nauwerck, C.*, Über Amitose. Deutsche med. Wochenschr. 1893. Nr. 35. — 53. *Nussbaum, M.*, Diskussion zu dem Vortrage von *E. Klein*: Some points in structure of cells and nuclei. Transact. of the intern. med. Congress, 7. session London. Vol. 1. p. 275—276. London 1881 (zitiert nach *Oppel* Nr. 55). — 54. *Oppel, A.*, Beiträge zur Anatomie des *Proteus anguineus*. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 34. 1889. — 55. Ders., Leber. Im Lehrbuch d. vergl. mikroskop. Anat. d. Wirbeltiere, herausgeg. v. Prof. Dr. *Albert Oppel*. 3. Teil. Jena 1900. — 56. *Pescke, J.*, Beiträge zur Kenntnis des feineren Baus der Wirbeltierleber. Inaug.-Diss. Dorpat 1874. S. 58. — 57. *Pfeiffer, L.*, Über Sekretvakuolen der Leberzellen im Zusammenhange mit den Gallenkapillaren. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 23. 1884. — 58. *Pfitzner, W.*, Beobachtungen über weiteres Vorkommen der Karyokinese. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 20. 1881. S. 127. — 59. *Pflüger, E.*, Über die Abhängigkeit der Leber von dem Nervensysteme. Pflügers Arch. Bd. 2. 1869. S. 472 u. 485. — 60. *Podwyszołski, W. v.*, Experimentelle Untersuchungen über die Regeneration der Drüsengewebe. Erster Teil. Untersuchungen über die Regeneration des Lebergewebes. Zieglers Beitr. zur path. Anat. u. Physiol. Bd. 1. 1886. — 61. *Ponfick, E.*, Experimentelle Beiträge zur Pathologie der Leber. Virchows Arch. Bd. 118 u. 119. 1889 u. 1890. — 62. *Purkinje*, Bericht über die Versammlung der Naturforscher in Prag im Jahre 1837. Prag 1838. S. 174 (zitiert nach *Henle* Nr. 31). — 63. *Ranvier, L.*, Les membranes muqueuses et le système glandulaire. Le foie. Journ. de Microgr. T. 9. 1885 (zitiert nach *Oppel* Nr. 55). — 64. *Regaud, Cl.*, État des cellules interstitielles du testicule chez la Taupe pendant la période de spermatogénèse et pendant l'état de repos des canalicules séminaux. Compt. rend. de l'Association des Anatomistes. Sixième Session. Toulous 1904. — 65. *Reinke, Fr.*, Über direkte Kernteilungen und Kernschwund der menschlichen Leberzellen. Verhandl. d. anat. Gesellsch. XII. Vers. 1899. Ergänzungsheft zu Bd. 14 des Anat. Anz. — 65a. *Roux, W.*, Der Kampf der Teile im Organismus. 1881. — Ders., Über die Selbstregulation der Lebewesen. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 13. 1902. — Ders., Die Selbstregulation, ein charakteristisches und nicht notwendig vitalistisches Vermögen aller Lebewesen. Nova Acta der Leopoldina. Bd. 100. 1914. — 66. *Schaffer, J.*, Vorlesungen über Histologie und Histogenese. Leipzig, Engelmann, 1920. — 67. *Szymonowicz, L.*, Lehrbuch der Histologie und der mikroskopischen Anatomie. 4. Aufl. Leipzig 1921. — 68. *Semon, R.*, Die Mneme als erhaltendes Prinzip im Wechsel des organischen Geschehens. Leipzig, Engelmann, 1911. — 69. *Stöhr Ph.*, Lehrbuch der Histologie. 18. Aufl., bearb. v. *O. Schulze*. Jena 1919. — 70. *Tandler, J.*, Konstitution und Rassenhygiene. Zeitschr. f. angew. Anat. u. Konstitutionslehre. Bd. I, H. 1. Berlin 1913. — 71. *Tandler, J.*, und *Grosz, S.*, Über den Saison-dimorphismus des Maulwurfhodens. Arch. f. Entw.-Mech. Bd. 33. 1911 u. Bd. 35. 1912. — 72. *Toldt, C.*, und *Zuckerkindl, E.*, Über die Form- und Texturveränderungen der menschlichen Leber während des Wachstums. Aus d. LXXXII. Bd. d. Sitzungsber. d. K. Akad. d. Wiss. zu Wien. III. Abt. Nov.-Heft Jahrg. 1875. — 73. *Wagner, E.*, Beitrag zum normalen Bau der Leber. Arch. d. Heilkunde. 1860. S. 268. — 74. *Weber, M.*, Über den Bau und die Tätigkeit der sog. Leber der Crustaceen. Arch. f. mikr. Anat. Bd. 17. 1880. S. 388.

Über den Mechanismus der Kiemenautotomie bei den Larven einiger Libellen.

Von

P. Perfiljew,

Petrograd.

(Aus dem Zoologischen Laboratorium an der Militär-Medizinischen Akademie.
Vorstand: Prof. Dr. E. N. Pawlowsky.)

Mit 3 Textabbildungen.

(Eingegangen am 8. Dezember 1922.)

Die Larven der Agrioniden gehören zu den Insekten, welche zur Autotomie fähig sind. Bei gewissen Bedingungen können sie ihre Kiemenblättchen abwerfen. Bei den jungen Larven ist die Autotomie leicht zu verursachen, indem man dieselben mit einer Pinzette an den Kiemen festhält. Dabei werfen die Larven den festgehaltenen Kiemen sogleich ab und schwimmen fort. Wenn man die jungen Larven der Reihe nach an jedem Kiemenblättchen festhält, so kann man sich leicht davon überzeugen, daß alle drei Blätter mit gleicher Leichtigkeit abgeworfen werden. Die erwachsenen Larven reagieren nicht immer durch sogleiche Autotomie, besonders wenn bei ihnen ein oder zwei Kiemenblättchen fehlen. In solchen Fällen beginnt sich das Insekt zu winden, sucht sich zu befreien, und wenn dies ihm nicht gelingt, beruhigt es sich, ohne daß die Autotomie stattfindet. Eine Larve, welche lange verfolgt wird, wirft jedoch schließlich ihre Kiemen ab.

Zuweilen kann man die Autotomie, ohne Anwendung der äußeren Kraft, beobachten. Dafür muß man die Larven in Ätherdämpfe placieren. Sie beginnen sich im Glase stark zu bewegen, und schon nach zwei drei Schlägen mit dem Abdomen bleiben alle drei Blättchen gleichzeitig irgendwo am Boden oder an der Wand des Glases zurück. Analoge Beobachtungen hat Janda¹⁾ im Jahre 1909 in bezug auf den Einfluß von Chloroform gemacht. Die Autotomie der enthaupteten Larven findet in Ätherdämpfen in dem Falle statt, wenn dieselben die Fähigkeit zu raschen Bewegungen behalten haben; falls aber die Larven schwach sind oder gequetscht wurden, so machen sie

¹⁾ Janda, O regeneračním dějích u cleonovců. II. Odonata. Věstník české společnosti nauk v. Praze. 1909.

bloß schwache, zuckende Bewegungen, indem keine Autotomie stattfindet. Die Teile derjenigen Larven, welche zwischen dem Metathorax und dem ersten Abdominalsegmente zerschnitten worden sind, winden sich in Ätherdämpfen im Laufe einiger Minuten; bei ihnen wird jedoch keine Autotomie beobachtet.

Bei der Betrachtung der Larven nach der Autotomie sieht man, daß der Riß immer an der Kiemenbasis, in einer bestimmten Stelle — an der Grenze zwischen dem Kiemen und dem Körperende stattfindet. Die Larven besitzen hier eine ringförmige Schicht von besonderer Struktur, welche weiter unten eingehender beschrieben wird. Diese Schicht kann man bei erwachsenen Larven bloß an Schnitten erkennen. Bei jungen Larven — ungefähr bis zur zweiten dritten Häutung — ist die auf Totalpräparaten in der Gestalt eines weißlichen Querstreifchens zu sehen, welches in der Basis des Kiemenblättchens gelegen ist. Der Tracheengang, welcher längs dem Körper und im Kiemen der Larve deutlich zu verfolgen ist, wird unter diesem Streifen unterbrochen.

Die angeführten Beobachtungen weisen auf das Vorhandensein einer Struktur in der Kiemenbasis hin, mit welcher, vielleicht, der Prozeß der Autotomie verbunden ist. Im Ziele der Aufklärung dieser Frage habe ich das Ende des Abdomens bei den autotomierten Larven die abgeworfenen Kiemen, ebenfalls wie auch das Ende des Abdomens (mit den Kiemen) der normalen Larven in *Duboscq* und *Leuwen*-Gemisch fixiert. Die Serien der Paraffin-Längsschnitte wurden mit Eisenhämatoxylin nach *Heidenhain* und nach *Giemsa* gefärbt. Parallel habe ich bei den fixierten normalen Larven die Kiemen abgerissen, nachher habe ich die abgeworfenen und abgerissenen Kiemenblättchen und die entsprechenden Enden des Abdomens miteinander verglichen.

Bei den Agrionidenlarven befestigen sich die Kiemen (Abb. 1 br) an der hinteren Wandung des letzten Abdominalsegments, welches en face die Form eines Dreiecks mit gerundeten Rändern besitzt. In den Winkeln des Dreiecks befinden sich kleine säulenartige Erhöhungen — die Kiemenhöcker. Diesen letzteren sitzen die Kiemen auf. In der Basis eines jeden Kiemenblättchens ist, in Übereinstimmung mit dem obenerwähnten Ringe, eine besondere Scheidewand vorhanden, welche auf Schnitten sichtbar ist und aus Epithel und wie es scheint aus Muskelgewebe besteht (Abb. 1 at). Die Scheidewand besitzt eine Öffnung zum Durchgang der Tracheen, ebenfalls wie auch eine besondere Lichtung, durch welche in den Kiemen und aus denselben die Hämolymphe durchfließt. Die Grundlage der Scheidewand bilden Faserbündel, welche sich von der einen Chitinwand zur anderen hinziehen; sie stellen, wie es scheint, Muskelemente dar, da stellenweise eine Andeutung auf die Querstreifung zu bemerken ist. Überhaupt

muß bemerkt werden, daß das untersuchte Gewebe sich nach der Färbung mit Eisenhämatoxylin nach *Heidenhain* sehr schwer differenziert. In der Dicke der Scheidewand kann man auf dem Durchschnitte zwei dickere Hautbündel unterscheiden, welche in der Mitte verlaufen (siehe Abb. 2 *mh*). Zwischen ihnen befinden sich überall einzelne, dünne Fäserchen, welche in bezug auf die Muskelfasern ein Peremysium bilden, dazwischen sind kleine Zellen von ovaler Form, mit einem

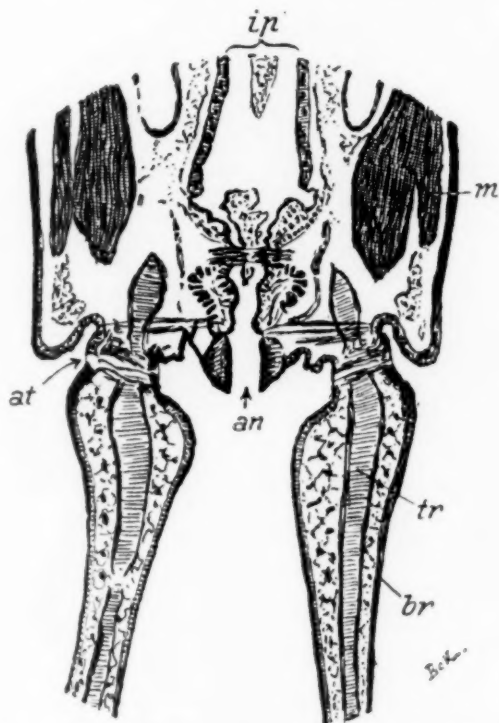


Abb. 1. Horizontaler Längsschnitt durch das Ende des Abdomens der *Agrion*-Larve und zwei Kiemenblättchen. *an* Anus; *m* Muskeln; *tr* Trachee; *ip* Enddarm; *br* Kiemen; *at* weißer Chitiring und Scheidewand in der Kiemenbasis.

kleinen, runden Kern in der Mitte, zerstreut; diese Zellen erinnern an die Blutelemente, welche im Blutsinus der Larve gut zu unterscheiden sind.

Alle obenbeschriebenen Fasern bilden die Mittelscheibe der Scheidewand und befestigen sich genau im Umkreise der veränderten hellen Chitinschicht des Integuments (Abb. 2 *at*). Von der Seite der Leibeshöhle rückt an diese Schicht die vordere Scheibe heran, welche aus saftigen Epithelzellen besteht (Abb. 2 *ep*), die in der Mitte rundlich,

an den Rändern länglich sind und einen an Chromatin reichen Kern besitzen. Die vordere Scheibe füllt fast ganz die Höhlung des Kiemenhöckers aus. Längs den Rändern der Scheibe gehen die Epithelzellen in die Hypodermis über (Abb. 2 *hp*). Das Aussehen der Zellen verändert sich dabei einigermäßen: sie werden dünner und verlängern sich. Die Hypodermis des Höckers wird also durch hohe Zellen mit

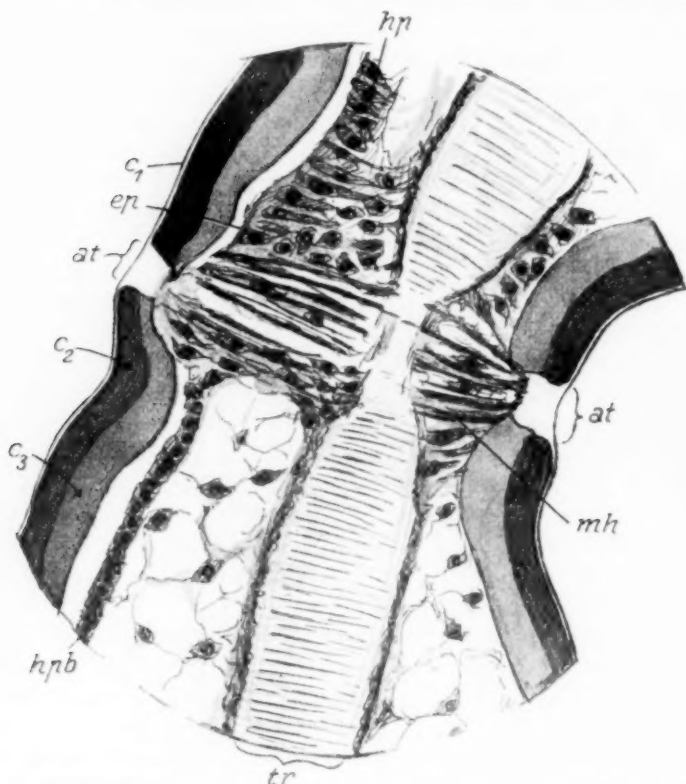


Abb. 2. Längsschnitt durch die Kiemenbasis der *Agrion*-Larve. *c*₁ oberflächliche (homogene) Cuticula; *at* zerbrechlicher Ring aus homogenem Chitin; *c*₂ mittlere Chitinschicht; *c*₃ tiefer Teil der Chitinecuticula; *hp* Hypodermis; *hpb* Kiemenhypodermis; *ep* Epithelschicht an der Kiemenscheidewand; *mh* Scheidewand in der Kiemenbasis; *tr* Trachee.

deutlichen Grenzen gebildet. Indem die Zellen sich in die Höhlung des Segments fortsetzen, werden sie rasch flacher, und die Hypodermis des Körpers besitzt schon das Aussehen einer Schicht niedriger Zellen mit undeutlichen Grenzen.

Von der Seite des Kiemens schließt sich der Mittelscheibe die hintere Scheibe an (Abb. 2 *mh*; Abb. 3 *mh*₂). Diese letztere bildet gleichsam den Boden der Kiemenhöhlung und besteht aus zwei Mem-

branen: die erste stellt eine kontinuierliche Muskelfmembran, die zweite eine Zellmembran dar. Diese letztere ist aus kleinen Zellen gebaut, welche untereinander locker verbunden sind und bis zum Zentrum der Scheibe nicht heranreichen. Daher stellt die betrachtete Membran kein kontinuierliches Gebilde, wie die erste Membran, dar. Auf Schnitten sind die Zellen dieser Membran hauptsächlich näher zu den Rändern der Scheibe, d. h. an den Wandungen des Kiemen-

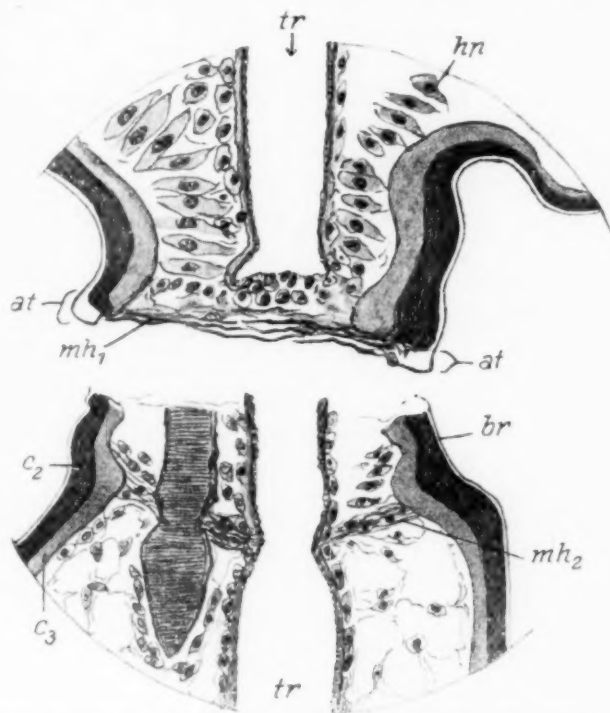


Abb. 3. Ende des Abdomens der *Agrion*-Larve nach dem Abwerfen des Kiemens. *at* Rest des homogenen Chitininges, in dessen Gebiet der Riß stattgefunden hat; *mh₁* Teil der Kiemen-scheidewand, welcher zurückgeblieben ist und die Wunde tamponiert; *tr* Trachee, deren Öffnung von der Scheidewand geschlossen ist; *br* Basis des abgestreiften Kiemens; *mh₂* Rest der Scheidewand im Kiemen; *tr* die Trachee im abgefallenen Kiemen bleibt offen und wird von der Scheidewand nicht geschlossen.

blättchens, sichtbar. Indem die Zellen auf die Kiemenwand übergehen, nehmen sie das Aussehen eines kubischen Epithels an, welches bloß in der erweiterten Basis des Kiemenblättchens zu finden ist. Weiter werden die Zellen flacher, die Grenzen zwischen ihnen, welche in der Kiemenbasis zu unterscheiden sind, fließen zusammen, die Fasern, welche einen Bestandteil der Muskelfmembran der hinteren Scheibe bilden, befestigen sich in einem Abstände von der weißen Schicht.

Indem wir nun zur Beschreibung des Chitinringes, welcher in der Kiemenbasis zu erkennen ist, übergehen, müssen wir einiges über den Bau der Cuticula bei den Agrionidenlarven im allgemeinen berichten. Die Cuticula dieser Larven besteht aus drei Schichten, welche bei der Färbung mit Eisenhämatoxylin nach *Heidenhain* gut zu unterscheiden sind. Von innen gerechnet, ist die graue, längsgestreifte und direkte Schicht (Abb. 2 c₃) die erste, nach außen davon befindet sich eine dünne, schwarze Schicht (Abb. 2 c₂) und die äußere weiße Schicht (Abb. 2 c₁), welche das Aussehen eines sehr dünnen Saumes besitzt. Diese letztere tritt deutlicher hervor, wenn man die Präparate bei starker Vergrößerung betrachtet. Bei schwacher Vergrößerung bleibt sie öfters unbemerkt. Indem sich die weiße Schicht dem Kiemenhöcker nähert, wird sie dicker und an der Grenze des Kiemens verdrängt sie die schwarze und graue Schicht, indem sie deren Stelle einnimmt. Indem die weiße Cuticula weiter die oberflächliche Schicht des Kiemens bildet, geht sie auf denselben gerade in der Gestalt einer dünnen Schicht über. Bei der gesunden Larve befindet sich also zwischen dem Kiemenhöcker und dem Kiemen ein Anteil der veränderten Cuticula, welcher die Form eines in die Dicke des Chitins eingeschlossenen weißen Ringes besitzt (Abb. 1, 2 at). Eine Längsstreifung, wie sie in der grauen Cuticula vorhanden ist, kann man hier nicht bemerken. Wie es scheint, besteht der weiße Ring aus homogenem Chitin. Diesem weißen Ringe schließt sich die oben beschriebene Scheidewand an. Die Stelle im Gebiete des weißen Ringes ist bei den Larven unbeweglich.

Die Larve kann schwache Bewegungen mit ihren Kiemen machen, welche darin bestehen, daß das Insekt alle drei Blättchen zusammenfalten kann, indem es das obere Blättchen sinken läßt und die beiden Seitenblättchen ans erste drückt. Diese Bewegungen sind aber durch die Bewegung des Kiemenhöckers selbst bedingt. An der Basis des letzteren befestigen sich besondere Muskeln, welche von der Chitinwandung der Vertiefung ausgehen, in deren Grund der Enddarm der Larve mündet. Andere vom Kiemenhöcker unabhängige Kiemenbewegungen werden bei den Larven nicht beobachtet.

Wir wollen jetzt zur Beschreibung der autotomierten Larven übergehen und vor allem betrachten, wie die Basis des abgeworfenen Kiemens aussieht. Auf Längsschnitten bilden die Kiemenränder freie Fortsätze, die aus einer gewöhnlichen dreischichtigen Cuticula bestehen. An den Enden der Fortsätze sind keine Spuren des weißen Ringes zu bemerken (Abb. 3 br). Die Länge der Fortsätze ist bei der gesunden Larve genau dem Abstände zwischen dem weißen Ringe und der Befestigungsstelle der Muskelfasern, die einen Bestandteil der hinter der Mittelscheibe in der Kiemenscheibe gelegenen Muskelmem-

bran bilden, gleich. Der zerrissene Tracheenstamm bildet eine breite Öffnung (Abb. 3 *tr*). Der inneren Seite der Scheidewand liegen stellenweise große Ansammlungen von Blutkörperchen an. Im Kiemen bleiben also zwei Membranen zurück (Abb. 3 *mh*₂), welche oben als diejenigen Membranen beschrieben sind, die sich der vorderen Scheibe von der Seite des Kiemens anschließen. Daher kann man die ganze Scheidewand in zwei Abschnitte einteilen: in einen Kiemenabschnitt, dessen Bestandteil die Mittelscheibe bildet, und in eine Epithelschicht, welche sich der Mittelscheibe von seiten der Leibeshöhle anschließt.

Ein anderes Bild finden wir im Kiemenhöcker, von welchem der untersuchte Kiemen abfällt. An den Enden der abgebrochenen Cuticula bemerken wir vor allem die Reste des weißen Chitinringes (Abb. 3 *af*). Auf Schnitten haben sie das Aussehen kurzer Säulchen. Die Ränder der Wunde sind durch die mittlere Muskelscheibe zusammengezogen (*mh*₁). Die Fasern, aus welchen dieselbe besteht, treten nahe zusammen und bilden eine kontinuierliche Membran, welche ein wenig in die Leibeshöhle eingezogen ist. Von der inneren Seite schließen sich dieser letzteren die Epithelzellen der vorderen Scheibe und die Blutelemente an. Die Trachee ist in die Leibeshöhle abgezogen, so daß deren Ende bis zur Wunde nicht heranreicht und, infolge des Einziehens der Trachee nach innen, geschlossen ist (Abb. 3 *tr*). Ebenfalls schließt sich auch die Öffnung in der Scheidewand, welche zum Übergange der Lymphe in den Kiemen diene.

Nachdem wir die Strukturbilder des Kiemenhöckers und der Kiemenbasis betrachtet haben, können wir uns den Mechanismus der Autotomie folgenderweise vorstellen: Unter dem Einflusse gewisser Reize findet eine starke Kontraktion der mittleren Muskelschicht statt, welche eine Abbrechung der Cuticula im Gebiete des weißen Ringes zur Folge hat. Die Cuticula ist in dieser Stelle allem Anschein nach am zerbrechlichsten, da auch bei den Kontrollarven mit künstlich abgebrochenen Kiemen der Riß immer an ein und derselben Stelle stattfindet.

Bei der Beobachtung des Prozesses der Autotomie unter dem Mikroskop kann man bemerken, daß nach dem Abfall des Blättchens bloß eine unbedeutende Quantität Lymphe hervortritt. Ich habe die Larven in flache Schalen gebracht, und, das Körperende immer im Auge zu behalten suchend, klemmte ich die Kiemenblättchen mit einer Pinzette ein. Bald stülpte sich vor der Autotomie der Kiemenhöcker mehrere Male aus, bald wurde er eingezogen, was wahrscheinlich von der Kontraktion der Muskelscheibe der Kiemenscheidewand und möglicherweise von denjenigen Muskelbündeln abhängt, mit deren Hilfe sich die Kiemen bewegen und die oben erwähnt worden sind.

Später fiel das Blättchen ab und die Larve entfernte sich, indem sie eine sehr geringe Quantität Lymphe zurückließ.

Wenn wir alles oben Gesagte in Betracht ziehen, so kommen wir zum Schlusse, daß die Agrionidenlarven besondere Vorrichtungen besitzen, mit deren Hilfe bei ihnen die Autotomie stattfindet. Erstens ist bei ihnen die Stelle des Bruches durch die veränderte Chitinschicht vorausbestimmt, zweitens wird die Ruptur durch spezielle Muskeln der Scheidewand ausgeführt, und drittens tamponieren anfänglich dieselben Muskeln die Wunde, indem sie einerseits die Larve vor der Blutung schützen und andererseits den Eintritt des Wassers in die Leibeshöhle verhindern.

Indem wir nun zum Vergleiche der Agrioniden mit anderen zur Autotomie fähigen Insekten übergehen, finden wir bei den letzteren, ebenfalls im Gebiete, wo der Bruch stattfindet, verschiedenartige Gebilde, welche mehr oder weniger an die eben beschriebenen erinnern. Am öftesten werfen die Insekten ihre Extremitäten ab, indem die Ruptur zwischen dem Trochanter und dem Femur stattfindet. *M. N. Rimsky-Korsakow*¹⁾ hat bei den Embien an dieser Stelle eine dünne Membran beschrieben, welche aus kleinen Zellen mit einer Öffnung für die Trachee und den Nerv besteht. Einer komplizierteren Scheidewand begegnen wir bei den Mantiolen und Phasmiden. Bei den letzteren ist nach *Godelmann*²⁾ zwischen dem Trochanter und dem Femur eine unbewegliche Gelenkverbindung vorhanden. Die Stelle derselben ist durch einen dunklen Chitinstreifen bezeichnet. Auf Schnitten kann man sehen, daß diesem Streifen das Zwerchfell entspricht, welches aus spindelförmigen Zellen, die miteinander locker verbunden sind und in mehreren Schichten angeordnet sind, besteht. Es ist ebenfalls eine Öffnung für die Trachee und den Nerv vorhanden. Das Blut geht unmittelbar durch das Zwerchfell hindurch. An den Rändern gehen dessen Zellen in die hohen Hipodermiszellen über. Später hat *Bordage*³⁾ bei den Phasmiden (*Monandropoda criuncans*) ein komplizierteres Diaphragma beschrieben. Es besteht aus zwei Häutchen, welche sich an der Grenze zwischen dem Trochanter und dem Femur befinden. Nach der Autotomie schließt eines derselben, nämlich das proximale, die Wunde und verhindert die Blutung. Das distale Häut-

¹⁾ *M. Rimsky-Korsakow*, Untersuchungen über den Bau und die Regeneration der Extremitäten bei Embien. 1913.

²⁾ *Godelmann*, Beiträge zur Kenntnis von *Bacillus rossii* Fabr. mit besonderer Berücksichtigung der bei ihm vorkommenden Autotomie und Regeneration einzelner Gliedmaßen. Arch. f. Entw.-Mech. 12. 1901.

³⁾ *E. Bordage*, Recherches anatomiques et biologiques sur l'autotomie et régénération chez divers Arthropodes. Bull. Scient. France et Belgique. 39. 1905.

ehen fällt zusammen mit der Extremität ab. Indem *Child*¹⁾ von der Kiemen-Autotomie bei den Agrioniden spricht, bemerkt er, daß hier wahrscheinlich eine besondere Vorrichtung vorhanden sei. Bei anderen Arthropoden, z. B. bei einigen Spinnen, ist ebenfalls an denjenigen Stellen, wo die Autotomie stattfindet, eine Scheidewand vorhanden; ihrem Bau nach steht sie aber der Scheidewand der Phasmoden näher.

Analoge Scheidewände kommen bei den krebsartigen Tieren und bei den Arthropoden, welche zur Autotomie fähig sind, vor.

Die Struktur der Scheidewände bei verschiedenen Arthropoden kann jedoch nicht in genaue Parallele gestellt werden, da diese Scheidewände nicht immer aus den gleichen Elementen bestehen. In allen Fällen kommt die Epithelmembran vor; was aber die Muskelfasern anbetrifft, so sind sie nicht in jedem Falle beschrieben worden.

Bei verschiedenen Klassen des Typus der Arthropoda kommen also Gebilde vor, welche ihrer Idee nach einander gleichen, aber ganz unabhängig voneinander, konvergent, entstanden sind. Der Zweck dieser Gebilde besteht im Bestreben, die besten Vorrichtungen für die Autotomie auszuarbeiten und den Organismus möglichst besser vor den schädlichen Folgen des Verlustes der Teile desselben zu schützen.

1. IX. 1922.

¹⁾ *Ch. Child and Young*, Regeneration of the Apendage in Nymphs of the Agrionidae. Arch. f. Entw.-Mech. 15. 1903.

Einige Materialien zur Theorie der abgestimmten Reaktionsgeschwindigkeiten.

Von

Richard Goldschmidt

(Berlin-Dahlem).

Mit 19 Textabbildungen.

(Eingegangen am 13. Dezember 1922.)

In verschiedenen Arbeiten, besonders in meiner Schrift über die quantitativen Grundlagen der Vererbung, habe ich versucht, eine Theorie der Vererbung zu entwickeln, in deren Mittelpunkt der Begriff der Reaktionsgeschwindigkeiten steht. Der Grundgedanke ist etwa der: Erbfaktoren sind Substanzen, denen sowohl eine bestimmte spezifische Qualität zukommt, als auch eine genau dosierte Quantität. Sie wirken nach der Art von Enzymen, indem sie Reaktionen katalysieren, deren Geschwindigkeit *ceteris paribus* proportional der Masse des Erbfaktors verläuft. Als die von den Faktoren katalysierte Reaktion kann man sich die Produktion der Hormone der Differenzierung vorstellen, aber auch irgendeine andere Reaktion, also etwa eine, die dafür sorgt, daß in einem bestimmten Moment ein bestimmtes Enzym vorhanden ist oder irgendeine andere chemische Situation sich vorfindet. Die ganzen als Entwicklung bezeichneten Differenzierungsvorgänge von ihrem Beginn, also dem Beginn der Tätigkeit der Erbfaktoren, bis zu ihrem Ende, also der Vollendung der definitiven Charaktere, lösen sich damit auf in eine Serie nebeneinanderlaufender Reaktionen von genau dosierter Geschwindigkeit, und die richtige Abstimmung dieser Geschwindigkeiten ermöglicht es, daß zu bestimmter Zeit, an bestimmtem Ort eine Situation eintritt, die einen bestimmten Differenzierungsvorgang zur Folge hat. Es gehört nicht viel Phantasie dazu, um sich nach einem solchen System den Vorgang der Differenzierung in seiner Bedingtheit durch die Erbfaktoren vorzustellen.

Wenn es sich nun darum handelt, das Vorhandensein eines solchen Systems dosierter Reaktionsabläufe nachzuweisen, so kann dies in erster Linie so geschehen, daß Störungen des Systems studiert werden, aus deren Ablauf auf das normale Geschehen rückgeschlossen wird. Tatsächlich sind ja diese ganzen Vorstellungen aus der Analyse eines solchen besonders günstigen Falles, der Intersexualität, abgeleitet und so findet sich in meinen verschiedentlichen Veröffentlichungen darüber

eine Fülle von Einzelmaterial zur Begründung der Hypothese. Da es mir nun scheint, daß hier eine Vererbungstheorie vorliegt, die sich von den früheren dadurch unterscheidet, daß sie nicht formalistischer, sondern entwicklungsphysiologischer Natur ist, so erscheint es mir wünschenswert, Material zu ihrer Begründung, wo es sich bietet, zu veröffentlichen. Natürlich ließe sich aus der Literatur eine Unmenge solchen Materials zusammenstellen. Darum handelt es sich aber nicht, sondern um solches, das entweder als Material selbst neu ist oder aber darum, daß eine früher schon bekannte Erscheinung durch neu gefundene Tatsachen sich unserem Gedankengang einordnen läßt. Es handelt sich dabei nicht um systematisch in Angriff genommene Untersuchungsreihen sondern meist um Dinge, die bei Gelegenheit anderer Arbeiten zum Vorschein kamen und dann im Sinne unseres allgemeinen Gedankenganges weiterverfolgt wurden. Im Folgenden sei eine erste Serie solcher Tatsachen besprochen.

1. Ein weiterer Beitrag zur Entwicklung des Flügelmusters der Schmetterlinge.

In einer früheren Arbeit habe ich gezeigt, daß das Flügelmuster der Schmetterlinge bereits von Anfang an völlig in allen Einzelheiten vorhanden ist, lange ehe irgendwelches Pigment gebildet wird, dessen Gegenwart in den Schuppen später die sichtbare Zeichnung bedingt. Ich konnte weiterhin zeigen, daß das erste Sichtbarwerden der Zeichnung in Oberflächenkonfigurationen erfolgt, die als Kanten, Ränder, Falten beschrieben wurden. Daran schlossen sich Versuche, das Muster auf dem Flügel zu verschieben durch Verlagerung des Flügels usw. Diese Versuche wurden seitdem fortgesetzt, aber mit so wenig positivem Erfolg, daß ich jetzt glaube, daß eine Verschiebung innerhalb des Musters mit den bisher benutzten Methoden nur in bescheidenstem Umfang möglich ist. Doch soll über diesen Teil des Problems hier nicht berichtet werden, sondern über den andern, das erste sichtbare Auftreten des Musters. Denn nunmehr hat sich die Bedeutung dieser früher beschriebenen Oberflächenkonfiguration völlig geklärt. Den Weg dazu wies die Untersuchung des intersexuellen Flügels, und dann fanden sowohl mein Assistent Dr. F. Süffert, wie ich selbst bei zahlreichen Objekten die Bestätigung des dort erhaltenen Resultats für die normalen Verhältnisse. Wir behalten uns vor, das an vielen Tag- und Nachtfaltern gewonnene umfangreiche Material einmal ausführlich zu veröffentlichen. Hier seien nur die Hauptpunkte mitgeteilt, die für das Thema dieser Arbeit von größerer Bedeutung sind. Die Ausgangsbefunde am intersexuellen Flügel sind bereits veröffentlicht¹⁾, aber die Hauptpunkte müssen zunächst vorausgeschickt werden.

¹⁾ Unters. üb. Intersexualität. II.

Intersexuelle Männchen sind Individuen, die ihre Entwicklung als Männchen beginnen und von einem bestimmten »Drehpunkt« an als Weibchen vollenden. Je früher der Drehpunkt, um so höher der Grad der Intersexualität. Auf den Flügeln intersexueller Männchen des Schwammspinners ist nun ein Mosaik männlicher (brauner) und weiblicher (weißer) Schuppen sichtbar und mit steigender Intersexualität vergrößern sich die weiblichen Bezirke auf Kosten der männlichen (Abb. 1). Die Anordnung der männlichen und weiblichen Teile ist völlig regellos. Wenn man sich vorstellt, daß eine bestimmte abgemessene Menge Pigment (weniger mit steigender Intersexualität) zur

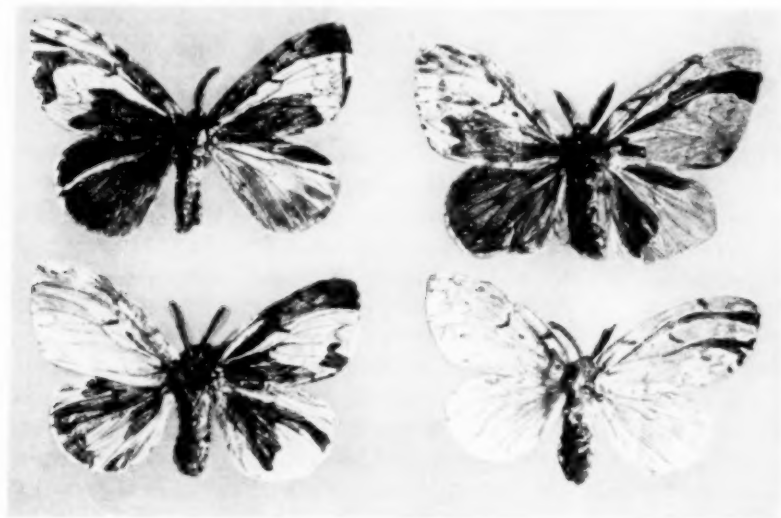


Abb. 1.

Verfügung steht und vom Körper ganz nach Zufall über die vier Flügel fließt, bis alles verbraucht ist, so gibt diese Vorstellung eine kurze Beschreibung der Anordnung der männlichen und weiblichen Teile. Dies Mosaik muß nun erklärt werden, denn bei allen andern Organen zeigt sich die Intersexualität so, daß nach dem Drehpunkt jede weitere Differenzierung mit dem neuen Geschlecht verläuft. Da die Schuppenentwicklung ziemlich spät erfolgt, so müßten also mindestens die höheren Stufen männlicher Intersexualität rein weibliche Flügel zeigen.

Der Schlüssel zu dem Problem wurde nun, abgesehen von der vergleichenden Betrachtung der Typen, durch eine Untersuchung der Flügelentwicklung intersexueller Männchen geliefert. Es zeigte sich, daß

hier bereits die männlichen und weiblichen Bezirke im jungen farblosen Puppenflügelchen vollständig abgegrenzt sind. Im frisch herauspräparierten Flügel zeigen die männlichen und weiblichen Bezirke eine verschiedene Art, das Licht zu reflektieren. Trocknet man aber das Flügelchen aus, so sieht man, daß in den später weiblichen Bezirken die Schuppen schon fest sind und sich beim Austrocknen mit Luft füllen, also dann weiß erscheinen. Sie haben auch die weibliche Form. In den später männlichen Bezirken dagegen sind die Schuppen noch weich und blutgefüllt, fallen daher beim Austrocknen zusammen. So kommt das charakteristische Bild zustande, in dem der weibliche Mosaikteil hoch erhaben herausragt. Dies zeigt nun, daß die Mosaikbildung dadurch zustande kommt, daß die weiblich determinierten Flügelteile eine schnellere Differenzierungsgeschwindigkeit haben als die männlichen. Wie sich nun auf Grund dieses Befundes das spezielle Problem des intersexuellen Mosaiks löst, brauchen wir hier nicht zu wiederholen, da wir nun bereits den Übergang zu unserem eigentlichen Gegenstand gefunden haben.

Das sexuelle Mosaik im besprochenen Fall stellt ja auch eine Flügelzeichnung dar, wenn auch eine unregelmäßige. Es fand seine Erklärung durch verschiedene Differenzierungsgeschwindigkeit der betreffenden Flächenteile. Es liegt also der Schluß nahe, daß auch die regelmäßigen Elemente der Flügelzeichnung durch differentielle Entwicklungsgeschwindigkeit der einzelnen Schuppenbezirke direkt verursacht werden. Tatsächlich hat die Untersuchung dieses Resultat ergeben und damit auch die Bedeutung der früher beschriebenen Schuppenreliefs geklärt. Die einzelnen Elemente auch des kompliziertesten Zeichnungsmusters kommen, soweit Dr. Söffert und ich feststellten, durch verschiedene Differenzierungsgeschwindigkeiten der Einzelbezirke zustande. Nur ein Beispiel sei dafür hier angeführt, der Schwalbenschwanz *Thais polyxena* und auch hier nicht sämtliche Zeichnungselemente besprochen, sondern nur die der Flügeloberseite. Abb. 2 zeigt die Oberseite des Falters mit der charakteristischen Zeichnung schwarz auf gelbem Grunde. Der Hinterflügel besitzt außerdem noch auf der Oberseite eine Reihe roter Flecken und in deren Nähe Gruppen weißer Schuppen. Die Entwicklungsgeschwindigkeiten



Abb. 2.

sind nun so dosiert, daß zuerst die Schuppen der roten Flecke auf den Hinterflügeln fertig werden. In ihnen wird auch, — was sonst nicht der Fall ist — sogleich das Pigment abgelagert. Auf ganz jungen ungefärbten Flügeln sieht man daher bereits nach Austrocknung die roten Flecken wie Pinsel von Schuppen auf dem Flügel vorragen. Die nächste Entwicklungsgeschwindigkeit zeigen die gelben Zeichnungselemente. Die betreffenden Schuppenbezirke werden fertiggestellt, bevor die später schwarzen Teile fertig werden. Wird dann ein Flügeln in diesem Stadium ausgetrocknet, dann erscheinen die später



Abb. 3a.

schwarzen Teile als farblose Fläche auf der die später gelben Teile als starke Erhebungen vorragen. In Abb. 3a sind Photogramme dieses Zustandes vom Vorder- und Hinterflügel wiedergegeben mit dem fast ausgefärbten Flügeln zum Vergleich (Abb. 3b). In Abb. 3c ist auch noch ein Photogramm der nicht weiter zu besprechenden Flügelunterseite zugefügt, weil diese besonders in den Randpartien das reliefartige Vortreten der später gelben Stellen deutlicher erkennen läßt. Erst an dritter Stelle werden die später schwarzen Stellen fertig und pigmentieren sich schließlich.

Diese kurze Schilderung, die aber die für alle Flügelmuster gültige Quintessenz des Vorgangs enthält, zeigt also, wie das Muster der Zeich-

nung durch genau dosierte Entwicklungsgeschwindigkeiten seiner Teile charakterisiert ist. Was wird nun damit am Ende erreicht? Das schließliche Zeichnungsmuster besteht, — wenn wir hier von der schwie-

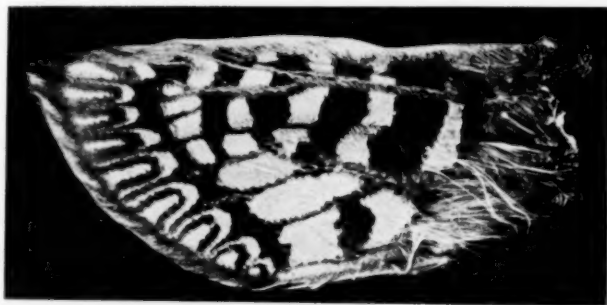


Abb. 3 b.



Abb. 3 c.

rigeren Frage der Differenzierungen in der Schuppenstruktur absehen — aus verschieden gefärbten Bezirken. Wir können uns nun sehr wohl vorstellen, wie diese im Zusammenhang mit den dosierten Entwicklungsgeschwindigkeiten zustande kommen. Wenn etwa zu einer bestimmten Zeit die chemische Situation im Flügelchen eine solche

ist, daß nur Harnsäurederivate zur Ablagerung in die Schuppen zur Verfügung stehen, dann werden eben alle Schuppen, die das richtige Stadium erreicht haben, diese Stoffe erhalten. Wenn dann später ein Chromogen zur Verfügung steht, so sind es wieder andere Flügelbezirke, die dafür im aufnahmefähigen Zustande sind. Es ist also nunmehr gar nicht nötig, lokalisiert verschiedenen Chemismus für die einzelnen Bezirke des Musters zu fordern.

Mit der Herausarbeitung des Musters mittels differenter Entwicklungsgeschwindigkeiten der Schuppenbezirke, ist nun natürlich nicht die Ursache des Musters erklärt. Denn die Stellen verschiedener Entwicklungsgeschwindigkeit stellen bereits das Muster dar und seine Entstehung muß daher früher liegen. Welcher Art die Vorgänge vielleicht sein könnten, die primär ein Muster verschiedener Entwicklungsgeschwindigkeiten bedingen, ist ein sehr schwieriges Problem. In dem Fall, von dem wir ausgingen, dem des intersexuellen Flügels, scheint es allerdings gelöst zu sein. Wir führten in der angeführten Untersuchung aus, daß beim intersexuellen Flügel die Sache so liegt: Die Flügelbezirke, die die männliche Beschaffenheit auch nach dem Drehpunkt zeigen, müssen also zur Zeit des Drehpunktes bereits definitiv determiniert gewesen sein. Die Untersuchungen *Spemanns* hatten nun gezeigt, daß die Determination von Zellgruppen durch einen von einem bestimmten Punkt ausstrahlenden Determinationsstrom erfolgt. Auf die Flügelentwicklung übertragen, schlossen wir nun: Für die Schuppenbildungszellen des Flügels gibt es zeitliche Determinationspunkte, nach deren Eintritt das Schicksal der Zelle, also auch ihre Entwicklung zu einer weiblichen oder männlichen Schuppe, festgelegt ist. Dieser Determinationspunkt tritt (wenigstens bei den Mosaiktypen) nicht gleichzeitig auf der ganzen Flügelfläche ein, sondern schreitet von der Flügelbasis sich langsam über den ganzen Flügel ergießend als »Determinationsstrom« vor. Wenn nun im Falle der Intersexualität der Drehpunkt eintritt, so werden alle Flügelteile, die der Determinationsstrom noch nicht erreicht hat, ihr Geschlecht wechseln, alle aber, die er schon erreicht hat, ihre einmal eingeschlagene Differenzierungsrichtung beibehalten. So ist das geschlechtliche Flügelmosaik nichts anderes als eine Art Farbenphotographie (bildlich gesprochen) des Determinationsstroms!

Das intersexuelle Farbenmosaik ist ja nun auch ein Muster, wenn auch ein nicht regelmäßiges, flüssiges. Es entstand dadurch, daß die geschlechtliche Determination der einzelnen Schuppen, die in verschiedener Entwicklungsgeschwindigkeit sich ausdrückte, durch die Art des Vorschreitens des Determinationsstroms zu verschiedener Zeit erfolgte. Es ist nun ganz gut denkbar, diese Vorstellungen auch auf gewöhnliche Zeichnungsmuster (und auf jedes Entwicklungs»muster«) zu über-

tragen. An Stelle des geschlechtlichen Determinationsvorgangs hat dann ein Vorgang zu treten, der etwa die Schuppenentwicklung in Gang setzt; wenn diese Art von Determinationsstrom dann zu verschiedener Zeit an verschiedene Stellen gelangt, so bedingt er die Differenz der Entwicklungszeiten. Weshalb aber erreicht er die verschiedenen Punkte in der Form des späteren Musters? Die Unregelmäßigkeit im Falle des intersexuellen Musters mußte darauf beruhen, daß die lokalen Bedingungen, denen der vorfließende Determinationsstrom begegnete, unregelmäßige, also mehr oder minder zufällige waren. Regelmäßigkeit im gleichen Fall, also typisches Muster, würde als Grundlage des Vorhandenseins typischer, geordneter lokaler Bedingungen voraussetzen. Diese könnten irgendwelcher morphologischer, physiologischer oder chemischer Art sein, also etwa vorhandene Gewebestrukturen, Spannungen, Differenzen im Chemismus. Jedenfalls aber stehen sie in keinerlei sachlichem Zusammenhang mit dem späteren Muster, obwohl sie zu seiner Kausalkette gehören. Diese Bedingungen nun zu erforschen, ist eine nicht leichte Aufgabe. Experimente, mit denen Dr. Süffert seit Jahren hier beschäftigt ist, stoßen in dieser Richtung vor und über die ersten Ergebnisse wird er selbst bald berichten. Alles in allem aber zeigen die vorstehenden Erörterungen, daß wir hier wirklich mit interessanten Belegen für die Theorie zu tun haben, zu der hier Material vorgelegt werden soll.

2. Über vorausseilende Entwicklung (Prothetelie).

Unter diesem Namen hat man die Erscheinung beschrieben, daß gelegentlich bei holometabolen Insekten einzelne oder mehrere Organe schon im Larvenstadium metamorphosieren, also etwa Raupen mit Flügeln, Falterbeinen usw. entstehen. Von solchen Fällen besteht bisher ein großes kasuistisches Material, wie die Zusammenfassungen von Kolbe und Schulze zeigen. Über das Zustandekommen der Erscheinung ist aber fast nichts bekannt. Es wird nur verschiedentlich darauf hingewiesen, daß sie meist in Zimmerkulturen von Insekten vorkommt und daraus geschlossen, daß sie vielleicht mit abnormen Zimmertemperaturen zusammenhängen könne. Nur eine Angabe ist mir bekannt geworden, die auf die richtige Erklärung deutet (ohne sie aber zu geben), nämlich die Bemerkung von Heymons: »Da nach Dewitz die Metamorphose, d. h. die Umwandlung der Larve zur Puppe, durch besondere im Körper gebildete Enzyme (Oxydasen) herbeigeführt wird, so ist es erklärlich, daß durch Störung der normalen Stoffwechselvorgänge auch die Umwandlung sich beeinflussen läßt. Wenn nun in einem solchen Falle eine vorzeitige Bildung bestimmter Enzyme im Körper stattfindet, so ist es wohl möglich, daß

durch letztere auch die vorschnelle Entwicklung gewisser Organe verursacht werden kann.

Nur bei in Gefangenschaft gehaltenen Larven ist die Erscheinung der Prothetelie bis jetzt beobachtet und gerade bei solchen Larven werden Abänderungen in der regelrechten Funktion der inneren Organe nicht ausgeschlossen sein. Welcher Natur freilich die Stoffe sein mögen, die den Reiz zur beschleunigten Entwicklung ausüben, oder welche Bedingungen hierzu notwendig sind, darüber lassen sich gegenwärtig wohl kaum Vermutungen aufstellen.«

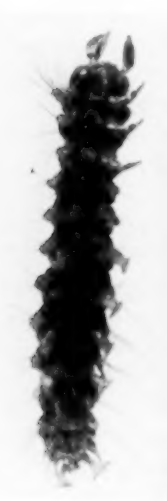


Abb. 4.

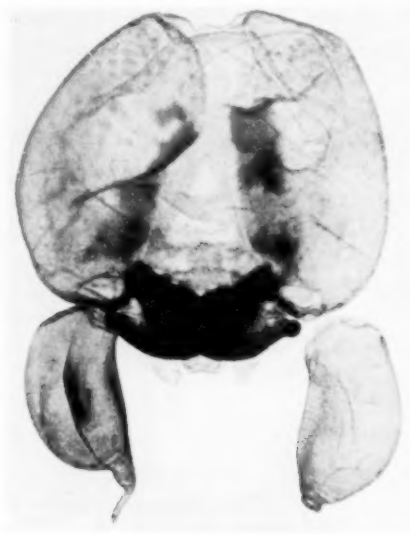


Abb. 5.

In meinen Zuchten des Schwammspinners *Lymantria dispar* sind nun im Laufe der Jahre dreimal Raupen mit Puppenantennen aufgetreten und zwar 1913, 1915, 1922. In den ersten beiden Fällen handelt es sich um große Zahlen von Individuen, etwa die Hälfte der betreffenden Zuchten. Leider wurde keine genaue Zählung vorgenommen und auch sonstige Untersuchungen nicht ausgeführt. Im dritten Fall handelte es sich nur um 3 Individuen, die aber nun genauer betrachtet wurden. In sämtlichen Fällen handelte es sich um Bastardzuchten zwischen europäischen und japanischen Rassen. Es scheint mir aber, daß dem an und für sich keine größere Bedeutung zukommt. Denn erstens sind es sehr verschiedenartige Bastardkombinationen, bei denen das Ereignis eintrat, nämlich verschiedene F_1 - und F_2 -Kombinationen. Zweitens ist das Auftreten der Abnormalität

nicht typisch für eine Kombination. So fand sich 1922 unter 18 Zuchten der gleichen Art nur ein Fall in einer Zucht, unter 27 Zuchten einer anderen Kombination zwei Fälle. Ich möchte vielmehr glauben, daß das Auftreten in Bastardzuchten einzig und allein den Grund hat, daß die überwiegende Mehrzahl meiner Kulturen Bastardkulturen sind.

Das äußere Aussehen der Individuen geht aus Abb. 4 hervor. Am Kopfe vorne sitzen an Stelle der kurzen gegliederten Raupenfühler zwei lange, stark chitinierte sichelförmige Gebilde, die genau der Form der Puppenantennen entsprechen, wie sie normalerweise im Augenblick der Verpuppung durch Ausstülpung der Imaginalscheiben entstehen, um dann auf der Ventralseite des Puppenkopfes zu liegen. Abb. 5 zeigt den Raupenkopf im mazerierten Präparat. Die Puppenantennen der Raupen sind allerdings etwas kleiner als sie in der Puppe wären. Sie werden von der Raupe nicht so getragen, wie es die Photographie zeigt, sondern hängen wie ein großer Schnurrbart nach unten und hindern dadurch die Raupen bei Bewegung und Nahrungsaufnahme.

Für die Beurteilung des Falles ist nun entscheidend, daß alle diese prothetischen Individuen solche waren, denen eine Verpuppung aus irgendeinem Grunde nicht gelang. In allen drei Fällen waren einige Raupen in den Zuchten übrig ge-

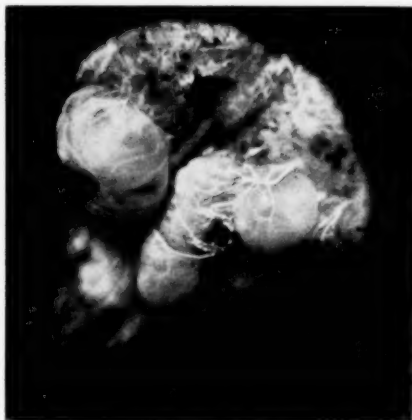


Abb. 6a.

blieben, die sich nicht verpuppen wollten. Mehrere (3—4) Wochen, nachdem die letzte normale Raupe sich verpuppt hatte, zu einer Zeit also, wo bereits alle Falter ausgeschlüpft waren (Puppenruhe 12 bis 20 Tage), lebten diese Tiere noch. Sie wurden dann schließlich zur Untersuchung abgetötet, als eine starb und die übrigen noch keine Anstalten zur Verpuppung machten. Da mindestens 4—5 Wochen seit der letzten Häutung vergangen waren, so erscheint es mir sicher, daß sie zur Verpuppung unfähig waren.

Bei der Untersuchung erwiesen sich zwei Individuen als ♂, eines als ♀ und dies letztere war besonders interessant. Beim Öffnen fand sich an der Stelle, an der die noch ganz unentwickelten Eierstöcke der Raupe liegen sollten, um ein vielfaches größere und absonderlich gestaltete Bildungen. In Abb. 6a sind sie photographisch wiederge-

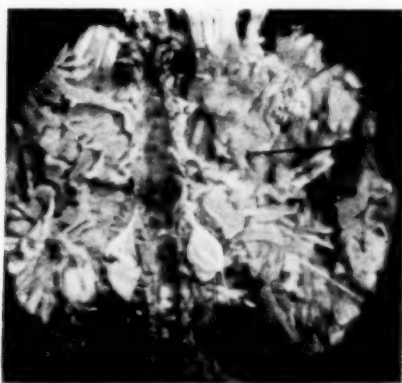


Abb. 6.

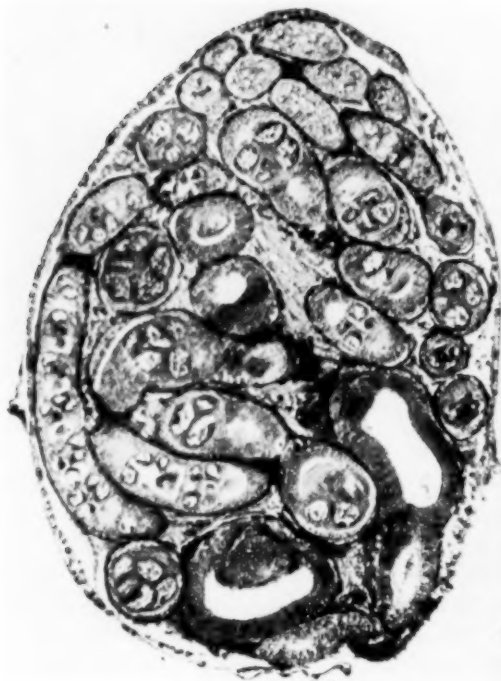


Abb. 7.

geben, in *b* zum Vergleich normale Eierstöcke bei gleicher Vergrößerung. Normalerweise ist ja in der zur Verpuppung reifen Raupe der Eierstock noch ganz unentwickelt und enthält die vier leicht aufgeknäuelten Eiröhren in einer bindegewebigen Hülle. In der jungen Puppe wachsen dann die Eiröhren stark heran, dann zerreißt die Hülle und die Röhren treten hinten aus ihr heraus gleichzeitig mit der Verlagerung der Ovidukte an das Hinterende der Puppe. Auf Schnitten durch das in Abb. 6 abgebildete Organ zeigt sich nun, daß in der prothetelen Raupe die Eierstockentwicklung weitergegangen war. Die Eiröhren sind mächtig herangewachsen wie in einer jungen Puppe, aber die Sprengung der Bindegewebshülle war nicht eingetreten, so daß die sich drängenden Eiröhren das Organ zu der absonderlichen Form aufgetrieben haben. Abb. 7 gibt einen Schnitt durch diese Drüse wieder.

Der Hoden ist normalerweise schon in der Raupe vor der Verpuppung fertig entwickelt und mit Sperma

gefüllt. Bei den vorliegenden prothetelen Individuen hatte er begonnen zu degenerieren und befand sich innerhalb einer besonders

starken bindegewebigen Kapsel im Zustand morphologischer Auflösung. Da nun der Eierstock sich über den Zustand des Raupenstadiums hinaus entwickelt hatte, war es von Interesse zu wissen, wie sich der feinere Bau der Puppenantennen verhielt. Normalerweise ist zur Zeit der Verpuppung die Antenne ein fast undifferenzierter häutiger Sack, aus dem sich erst in der Puppe allmählich die Falterantenne herausarbeitet, ein Vorgang, dessen interessante Einzelheiten ich früher beschrieben habe ¹⁾.

Eine der prothetelen Raupen wurde daher, nachdem sie aufgefunden war, noch 10 Tage am Leben gelassen, eine Zeit, die in der Puppe für die völlige Entwicklung der Antenne genügte. Eine solche trat nun in der Puppenantenne der Raupe nicht ein; aber es war doch eine kleine Entwicklung zu verzeichnen, die die Antenne etwa auf das Stadium des 3-Puppentags brachte.

Was lehren uns nun die genannten Tatsachen? Normalerweise tritt die Verpuppung einer Raupe zu einer ganz bestimmten Zeit ein, ein Zeitpunkt, der für die verschiedenen von mir untersuchten Rassen des Schwammspinners erblich verschieden ist. Es ist also eine Reaktion ererbt, die mit bestimmter Geschwindigkeit abläuft und am Ende eine chemische Situation hervorruft, die die Metamorphose bedingt (durch *Weinland* wissen wir, daß es sich um eine Änderung des Stickstoff-Stoffwechsels handelt). Der Beginn der Metamorphose ist eine Häutung, die nicht eine neue Raupenhaut, sondern die Puppenhülle zur Ausscheidung kommen läßt. Und wie auch andere Wachstumsprozesse mit den Häutungen zusammenhängen, so stülpen sich bei dieser Häutung die Imaginalscheiben für die Körperanhänge aus. Die Ausstülpung könnte einfach durch die Einleitung der Metamorphose bedingt sein. Sie kann aber auch unabhängig so determiniert sein, daß sie nach einem bestimmten Zeitablauf eintritt, wenn die übrigen Bedingungen — d. h. der Vorgang der Häutung — gegeben sind. Die Tatsache der Prothetelie, die sich auf alle Körperanhänge erstrecken kann (Flügel, Antenne, Beine, Mundgliedmaßen), beweist, daß die Ausstülpung der Imaginalscheiben unabhängig von der Metamorphose determiniert ist. Wir haben also zwei getrennt verlaufende, aber zeitlich aufeinander dosierte Entwicklungsreaktionen, die, welche die Metamorphose herbeiführt und die, welche die Ausstülpung der Imaginalscheiben bedingt. Es hat sich nun hier gezeigt, daß die prothetelen Individuen solche sind, die nicht zu metamorphosieren vermögen, sondern an Stelle der Metamorphose eine Raupenhäutung setzen. Was bewirkt nun diese Abnormalität? Entweder handelt es sich um den Einfluß abnormer Außenbedingungen wie Futter, Temperatur, Krank-

¹⁾ Unters. üb. Intersexualität. II.

heiten. Oder aber liegt eine Mutation vor. Ich neige zur Ansicht, daß letzteres der Fall ist. Die Außenbedingungen waren ja immer für alle Zuchten einer Generation die gleichen, so daß es schwer verständlich wäre, daß die Prothetelie in der beschriebenen Art in Erscheinung tritt. Dagegen spricht die Art des Auftretens, nämlich manchmal nur in einzelnen Individuen, manchmal als die Hälfte aller Individuen sehr für Mutation. Wir haben also hier, welches auch die Ursache sei, die Situation, daß von zwei aufeinander abgestimmten, aber unabhängig verlaufenden Entwicklungsreaktionen, nämlich der zur Verpuppung und der zur Ausstülpung der Imaginalscheiben führenden, die eine nicht zur richtigen Zeit ans Ziel kommt; obwohl also die Verpuppung nicht eintritt, tritt die Imaginalscheibenausstülpung ein. Nun sollten dann eigentlich alle Imaginalscheiben ausgestülpt werden und nicht nur die der Antennen. Aus der Literatur liegen nun auch Fälle für alle einzelnen Organe und auch mehrere gleichzeitig (z. B. Beine und Antennen) vor. Wenn im gegebenen Fall, wie in den meisten beschriebenen, aber nur ein Organ an der Prothetelie teilnimmt, so hat dies jedenfalls darin seinen Grund, daß besondere örtliche Bedingungen den Ausstülpungsvorgang bei Fehlen der Puppenstruktur ermöglichen bzw. verhindern. Bei Schmetterlingsraupen sind sichtlich die Verhältnisse für die Antennen am günstigsten, bei Mehlwurmlarven scheinen es die Flügel zu sein, die leichter zu protheteler Ausstülpung gelangen. Interessant ist auch das Verhalten des Eierstockes, der sich mit seiner ererbten Geschwindigkeit weiter entwickelt; die Sprengung der Bindegewebshülle findet aber nicht statt, da für sie die Bildung der Hinterleibsorgane der Puppe Voraussetzung ist. Alles in allem zeigt also die besprochene Erscheinung die Gesetzmäßigkeiten in Wirksamkeit, zu deren Illustration wir sie heranzogen.

3. Über nachhinkende Entwicklung (Hysterotelia).

Mit dem Namen Hysterotelia hat *P. Schulze* die der Prothetelie entgegengesetzte Erscheinung bezeichnet. Es bedarf wohl keiner besonderen Ausführungen um zu zeigen, daß die Erklärung sich in der gleichen Linie bewegen muß: das hysterotele Organ ist ein solches, das sich aus irgendwelchen Gründen zu langsam entwickelt hat, während alle anderen Vorgänge ihre richtige Entwicklungsgeschwindigkeit beibehielten. So ist im Endresultat ein Organ früherer Entwicklungsstufe vorhanden. Als neues Beispiel mögen ein paar Befunde an den Gonaden von Schwammspinnerraupe dienen. Die normale männliche Gonade einer solchen Raupe ist ein nierenförmiger Hoden, der aus vier hintereinanderliegenden Fächern besteht, deren jedes auf jungen Stadien noch einen rudimentären Ausführgang besitzt. In Abb. 8 ist ein Photogramm des Raupenhodens gegeben und zwar wurde ein In-

dividuum gewählt, in dem sich die Fächer typisch absetzen. Abb. 9 zeigt einen Schnitt durch solch ein junges Hodenpaar mit den Fächern. Auf ganz jungen Stadien sieht der Eierstock fast wie der Hoden aus; dann strecken sich aber die Fächer in die Länge und werden zu den vier Eiröhren, die also den Hodenfächern homolog sind; sie können sich bei Intersexualität ja auch ineinander umwandeln. Abb. 10 gibt das junge Ovar wieder, das rechts die Eiröhren durchschimmern läßt. Es ist nun schon lange, hauptsächlich durch die Arbeiten von Heymons, bekannt, daß die ersten Anlagen der Geschlechtsdrüse segmental sind. Zwar finde ich keine direkte Mitteilung, daß die einzelnen Hodenfächer bzw. Eiröhren je einem Segment entsprechen. Da aber Grassi gezeigt hat, daß bei *Jappa* und *Machilis* in 7 Körpersegmenten je ein Paar Eiröhren liegen, daß das gleiche für 5 Segmente junger *Lepisma* gilt, während bei der erwachsenen *Lepisma* die segmentale Anordnung verschwindet, so kann an der Beziehung der Fächer zur segmentalen Anlage kein Zweifel sein.

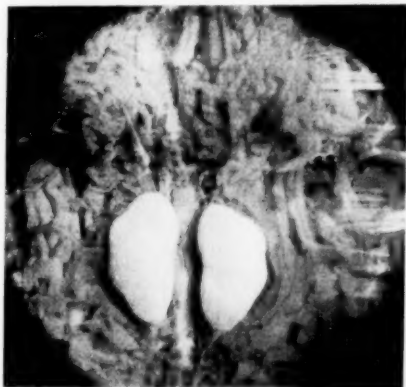


Abb. 8.

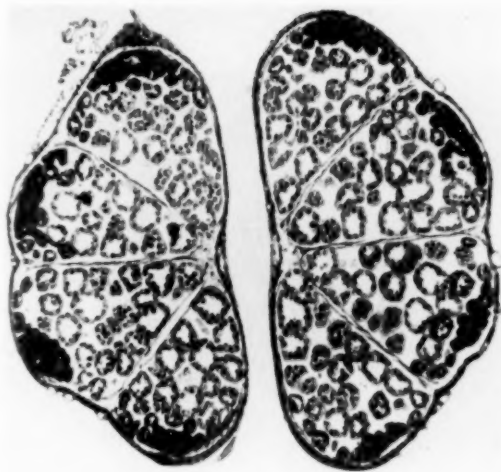


Abb. 9.

Beim Sezieren von etwa 7000 Bastardraupen des Schwammspinners zeigte es sich nun, daß relativ häufig Abnormitäten der Gonaden vorkommen, die als unvollkommene Vereinigung der ursprünglich segmentalen Anlagen zu deuten sind und zwar fanden sich etwa 10 solche Fälle, die teils die Erscheinung symmetrisch an beiden Gonaden, teils unsymmetrisch

an nur einer zeigten. Die hauptsächlich beobachteten Typen sind die: 1. die Hodenfächer sind nicht völlig zusammengedrückt, so daß sie deutlich einzeln unterschieden werden können. Abb. 8 zeigte den typischen Hoden. Abb. 11 zeigt bereits ein Übergangsstadium und Abb. 12 einen typisch nicht geschlossenen Hoden. 2. Ein Hoden



Abb. 10.



Abb. 11.

ist normal, im anderen ist die Vereinigung der Fächer nicht vollständig und zwar ist entweder ein Fach von den drei anderen oder zwei Fächer von den andern beiden getrennt, aber durch eine Brücke verbunden. Abb. 13 zeigt die Trennung 1:3, Abb. 14 die 2:2-Fächer. 3. Ein Fach der einen Seite ist vollständig isoliert und liegt im nächsten Segment; dies zeigt Abb. 15. 4. Jederseits liegt ein Fach isoliert und liegt im nächsten Segment (Abb. 16). Bei weiblichen Drüsen fanden sich

ganz entsprechende Abnormitäten, aber seltener. Abb. 17 zeigt einen Fall, in dem eine Eiröhre fast von den drei anderen isoliert war, und Übergänge dazu finden sich in den in Abb. 18 wiedergegebenen Organen.

Es braucht wohl nicht weiter ausgeführt zu werden, daß wir hier Fälle vor uns haben, in denen die Entwicklungsreaktion, die dafür sorgt, daß die segmentalen Gonadenanlagen sich zur nicht segmen-

talten Gonade zusammenschließen, zu langsam ablief, während die übrigen Differenzierungsvorgänge ihre normale Reaktionsgeschwindigkeit beibehielten, also wieder ein Beleg für das Prinzip der zeitlich abgestimmten Reaktionsgeschwindigkeiten.

Wir können es uns nicht versagen, an dieser Stelle wenigstens mit einem Wort die phylogenetische Seite zu streifen. Bereits in meinen »quantitativen Grundlagen« habe ich darauf hingewiesen, daß

meine Vererbungstheorie erlaubt, die Erscheinungen, die als Ausdruck des »biogenetischen Grundgesetzes« aufgefaßt werden in einfacher Weise verständlich zu machen. Man stelle sich etwa vor, daß ein Erbfaktor, der mit der Entwicklung des Hyomandibulare zu tun hat,



Abb. 12.



Abb. 13.



Abb. 14.

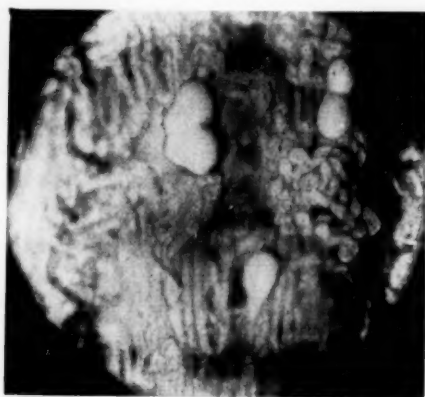


Abb. 15.

sich quantitativ so verändert, daß die von ihm beschleunigte Reaktion zu langsam verläuft. Zur Zeit der Kieferbildung ist dann in der Ohrregion anstatt eines zum Eintritt in den Kieferverband bereiten Knorpels nur ein noch weit zurückgebliebenes Rudiment vorhanden, das nun von den weiteren Gestaltungsprozessen, in die es nicht mehr eingepaßt ist, ganz anders, nämlich als Ohrknöchelchen verwandelt wird.

Dies soll nun nicht heißen, daß die Umwandlung des Hyomandibulare vom Fisch zum Amphibium tatsächlich so erfolgt ist; es soll nur zeigen,



Abb. 16.



Abb. 17.

wie scheinbar außerordentlich große phylogenetische Veränderungen nach unserem Prinzip auf winzig kleine Ursachen zurückgeführt werden können und wie unter solcher Vorstellungsweise die ontogenetische Rekapitulation der Phylogenie zu einer erbphysiologischen Notwendigkeit wird. Diese Bemerkungen wurden hervorgerufen durch die in den beiden letzten Abschnitten erwähnten Tatsachen. Kein Beobachter von Fällen von Prothetelie hat es versäumt, sie phylogenetisch zu betrachten. Es wurde etwa darauf hingewiesen, daß das gelegentliche Vorkommen von Flügelbildungen bei Larven von Holometabolen an die hemimetabole und epimorphe Entwicklungsweise niederer Insekten erinnert, deren ältere Larven oder Jugendstadien normal mit Flügelansätzen versehen zu sein pflegen. Heymons glaubt allerdings nicht, daß hier eine Rückschlagserscheinung in phylogenetischem Sinne vorliegt, sondern umgekehrt ein in progressiver Hinsicht veränderter Fall von Holo-



Abb. 18.

metabolen an die hemimetabole und epimorphe Entwicklungsweise niederer Insekten erinnert, deren ältere Larven oder Jugendstadien normal mit Flügelansätzen versehen zu sein pflegen. Heymons glaubt allerdings nicht, daß hier eine Rückschlagserscheinung in phylogenetischem Sinne vorliegt, sondern umgekehrt ein in progressiver Hinsicht veränderter Fall von Holo-

metabolie. Ebenso würde jeder Phylogenetiker die beschriebenen Fälle von Metamerie der Gonaden als Rückschlag auf den Zustand der primitiven Insekten deuten. Nach unserer Auffassung nun unterscheidet sich der genetische Zustand etwa der Ahnen mit metameren Gonaden von dem der daraus entstandenen Formen mit einheitlichen Gonaden nur dadurch, daß die gleiche entwicklungsgeschichtliche Reaktion in beiden Fällen verschieden rasch abläuft im Verhältnis zu den übrigen determinierenden Reaktionen. So kommt etwa die Serie *Japyx-Lepisma*-höhere Insekten zustande. Wenn nun bei letzteren aus irgendeinem äußeren oder inneren Grund die Reaktionsgeschwindigkeiten sich verschieben, so kann eine Erinnerung an den Ahnenzustand hervorgebracht werden, nicht aber weil nun ein Rückschlag oder dergleichen stattgefunden hat, sondern weil der Ahnenzustand zu dem Aktionsradius der im System vorhandenen Reaktionsbedingungen gehört. Ebensogut mag bei der primitiven Form auf dem gleichen Weg (mit umgekehrtem Vorzeichen) der Zustand der höheren Form erscheinen, also sozusagen ein in sein Gegenteil verkehrter Atavismus. Die phylogenetische Betrachtungsweise, wie sie sich im biogenetischen Grundgesetz ausdrückt, löst sich damit in eine genetisch-entwicklungsphysiologische auf.

4. Über asymmetrische Reaktionsgeschwindigkeiten.

Die neue experimentelle Biologie hat uns im Tierreich bisher mit vier Arten von echten Mosaikbildungen bekannt gemacht. 1. Die Gynandromorphen, Mosaikbildungen männlicher und weiblicher Teile, bedingt durch abnorme Verteilung der Geschlechtschromosomen im gleichen Individuum. 2. Intersexe, die wenigstens in gewissen Körperteilen Mosaikcharakter haben, bedingt durch das zeitliche Aufeinanderfolgen männlicher und weiblicher Determinierung. 3. Somatische Mutationen, bei denen das Mosaik dadurch zustande kommt, daß die Abkömmlinge einzelner mutierter Zellen genetisch vom Rest des Körpers verschieden sind und 4. somatische Segreganten, in denen das Mosaik dadurch hervorgerufen wird, daß bei einem Bastard eine vegetative Spaltung eintritt, die wieder genetisch verschiedene Körperbezirke hervorruft. In meinen »Quantitativen Grundlagen« S. 70 habe ich bereits kurz auf einen weiteren Typ verwiesen. Es handelt sich da um Zeichnungselemente von Schwammspinnerraupe. Sowohl bei bestimmten geographischen Rassen wie bei Bastarden zwischen bestimmten Rassen haben die Raupe auf ihrer Rückseite eine helle Zeichnung, die im Laufe der Häutungen allmählich durch dunkleres Pigment verdrängt wird. In jener Abhandlung wurde nun im einzelnen gezeigt, daß es sich dabei um eine mit bestimmter Geschwindigkeit fortschreitende Reaktion handelt, durch die allmählich die

Zeichnung von den helleren Klassen in die dunkleren geschoben wird. Es fanden sich nun gelegentlich unsymmetrische Individuen, bei denen die Reaktionsgeschwindigkeit rechts und links etwas verschieden war, so daß die eine Körperseite der anderen immer um eine oder mehrere Klassen voraus war. Von dieser Erscheinung sollen nun ein paar Daten näher mitgeteilt werden.

1. F_1 -Bastardraupe Kumamoto \times Gifu A. Die Kumamoto-Rasse hat sehr helle Raupen, die Gifu-Rasse helle Raupen, die sich später verdunkeln. In den Statistiken sind die hellsten Raupen als Klasse X bezeichnet, die dunkelsten als Klasse I. Abbildungen finden sich in der genannten Arbeit. Die Bastardraupen dieser Kreuzung sind zunächst hell, etwa Klasse VII—VIII und verdunkeln sich dann in der 4. Häutung nach Klasse IV—VII; alle männlichen und einige weibliche Raupen machen noch eine 5. Häutung durch, die sie dann in Klasse II—V führen. Ein paar Beispiele illustrieren dies.

| Nr. | Nach Häutung | 2. | 3. | 4. | 5. |
|-----------|-------------------|------|------|-----|-----|
| 21, 13, 1 | Zeichnungs-klasse | VIII | VIII | IV | — |
| 2 | " | VIII | VIII | VI | — |
| 3 | " | VI | VI | VI | IV |
| 5 | " | VIII | VII | VII | II |
| 8 | " | VIII | VIII | VI | — |
| 13 | " | VII | VII | V | — |
| 14 | " | VIII | VIII | VII | III |
| 15 | " | VII | V | V | — |
| 11 | " | VII | VII | VI | — |

Ein Individuum zeigte nun nach der 2. Häutung unsymmetrisches Verhalten, indem es rechts eine Klasse heller war als links, nämlich rechts Klasse VIII, links Klasse VII. Nach der 5. Häutung blieb dieser Zustand und nach der 4. Häutung war rechts die Klasse VI und links die Klasse V erreicht. Die Verdunkelungsreaktion hatte also links etwas früher eingesetzt wie rechts und dann blieb die Distanz konstant.

2. Eine Bastardraupe aus einer komplizierten Kreuzung zwischen drei Rassen, nämlich (Fuk \times Schnei) (Schnei \times Fuk) \times [(Schnei \times Hok) (Hok \times Schnei)]. Entsprechend der Komplikation der Kreuzung findet sich auch eine Spaltung der Raupentypen in solche, die von Anfang an dunkel sind, helle, die dunkler werden, und mittelhelle, die dunkler werden. Da das unsymmetrische Individuum der letzten Gruppe angehört, so können nur Geschwister der gleichen Gruppe zum Vergleich herangezogen werden:

| Nr. | Nach Häutung | 2. | 3. | 4. | 5. |
|-----------|-------------------|----|-----|----|----|
| AY 51, 21 | Zeichnungs-klasse | IV | II | I | — |
| 22 | " | V | III | I | — |
| 23 | " | VI | II | I | I |
| 28 | " | VI | V | I | — |
| 6 | " | V | IV | I | — |

Das unsymmetrische Individuum Nr. 27 zeigte nach der 2. Häutung rechts Klasse IV, links Klasse III, nach der 3. Häutung rechts Klasse IV, links Klasse II, nach der 4. Häutung rechts Klasse III, links Klasse I und nach der 5. Häutung beiderseits Klasse I. Es schlüpfte ein normales ♀. Der Vergleich mit den Geschwisterindividuen zeigt, daß hier auf der rechten Körperhälfte die Verdunkelungsreaktion etwas verlangsamt war.

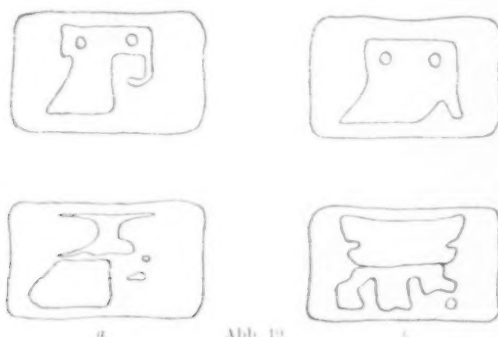
3. Wiederum eine Bastardraupe aus einer komplizierten Kreuzung $(Fuk \times Hok) \times (Hok \times Fuk) \times (Hok \times Kum)^2$. Es sei übrigens bemerkt, daß das Auftreten der Erscheinung in solchen komplizierten Kreuzungen nicht etwa eine besondere Bedeutung hat. Aus besonderen Gründen wurde gerade von solchen Kombinationen viele Versuche mit einzeln isolierten Raupen gemacht, die individuell in ihrer Lebensgeschichte verfolgt wurden. Zum Vergleich seien wieder Geschwisterindividuen ähnlichen Verhaltens gegeben:

| Nr. | Nach Häutung | 2. | 3. | 4. | 5. |
|----------|-------------------|------|------|------|----|
| AY 52, 3 | Zeichnungs-klasse | IX | IX | VII | IV |
| 14 | " | IX | IX | VII | IV |
| 16 | " | VIII | VII | IV | — |
| 25 | " | IX | VIII | VIII | II |

Das unsymmetrische Individuum zeigte sowohl nach der 2. Häutung wie nach der 3. beiderseits Klasse IX. Erst nach der 4. Häutung wurde es unsymmetrisch und zeigte links Klasse VII, rechts die Klasse III, nach der 5. Häutung war es links Klasse IV, rechts Klasse II und ergab dann ein normales ♀. Der Vergleich mit den Geschwistern zeigt, daß die Verdunkelungsreaktion rechts schneller als typisch abgelaufen war.

4. In der reinen Rasse Delitzsch waren in der Zucht 20, 17 ein halbes Dutzend unsymmetrische Individuen isoliert worden. Sie zeigten auf einer Seite Klasse IV, auf der anderen Klasse III. Beide Seiten gingen nach der 4. Häutung in Klasse I über. In diesem Fall konnte auch Nachkommenschaft aus den Faltern, die diese Raupen lieferten, erzogen werden. Sie war vollkommen normal.

Es ist nun zunächst festzustellen, daß tatsächlich hier keine vegetative Spaltung vorlag. Daran kann wohl kein Zweifel sein, soweit die Bastardformen in Betracht kommen. Denn außer durch die genannte Zeichnung unterscheiden sich die Raupen der verschiedenen Rassen noch durch zahlreiche andere Charaktere, von denen mindestens ein Teil korreliert mit der Zeichnung vererbt werden. In einem sicheren Fall vegetativer Spaltung, den ich in meinem Buch »Mechanismus und Physiologie der Geschlechtsbestimmung« S. 150, Fig. 78 abgebildet habe, unterscheiden sich tatsächlich die gesamten Erbcharaktere der Mosaikbezirke. In den hier genannten Fällen war aber nichts dergleichen zu beobachten. Ein Fall liegt noch vor, in dem man ohne Kenntnis dieser Tatsachen leicht auf vegetative Spaltung schließen würde, weil die Klassendistanz der beiden Hälften so groß ist, daß der Mosaikcharakter besonders deutlich in Erscheinung tritt. Bei einer F_1 -Zucht



aus den Rassen Ogi und Kumamoto (AV 47) fanden sich zwei solche unsymmetrische Individuen. Das eine davon verhielt sich wie die angeführten Beispiele (Abb. 19b). Bei dem anderen (Abb. 19a) fand sich links Klasse VIII, rechts Klasse V nach der 3. Häutung. Nach der 5. Häutung war links immer noch VIII, rechts aber IV, so daß nun die Asymmetrie besonders scharf in Erscheinung trat (Abb. 19). Nun könnte dies tatsächlich links Kumamoto- und rechts Ogicharakter sein, also vegetative Spaltung. Die übrigen Individuen der Zucht zeigen aber nach der 4. und noch mehr nach der 5. Häutung eine starke Variation von hell nach dunkel, die die beiden Klassen der unsymmetrischen Raupen einschließt, so daß doch die Wahrscheinlichkeit vorliegt, daß, wie sonst innerhalb der Individuen einer Zucht, hier innerhalb der Körperhälften eines Individuums eine Variation der Reaktionsgeschwindigkeit des Verdunkelungsvorgangs stattgefunden hat.

Dem Embryologen sind Asymmetrien in der Organentwicklung wohl bekannt und sie dürften keine seltene Erscheinung vorstellen. In den

hier besprochenen Fällen erscheinen sie aber deshalb bemerkenswert, weil aus den genetischen Experimenten hervorgegangen war, daß die Differenzen, die sich auf den beiden Körperhälften zeigten, solche sind, wie sie bei verschiedenen Rassen bzw. ihren Bastarden auf differente erbliche Reaktionsgeschwindigkeiten eines Entwicklungsvorgangs, hier der Pigmentierung, zurückzuführen sind. Wenn das Gleiche nun in den Körperhälften eines Individuums, wohl als Konsequenz kleiner Differenzen in dem physiologischen Zustand der beiden ersten Furchungskerne, eintritt, so scheint es uns in der Tat das Prinzip der gestuften Reaktionsgeschwindigkeiten sehr schön an der Arbeit zu zeigen.

Zitierte Literatur.

- Dewitz, J., Sur l'action des enzymes (oxydases) dans la métamorphose des Insectes. C. R. Mem. Soc. Biol. Paris. 1902. — Goldschmidt, R., Die quantitativen Grundlagen von Vererbung und Artbildung. Vortr. u. Aufs. Entw.-Mech. Heft 24. Springer, Berlin. 1920. — Ders., Untersuchungen über Intersexualität. Zeitschr. indukt. Abst. 23. 1920. Desgl., II. Ibid., 29. 1922. Desgl. III. Ibid., im Druck. — Ders., Mechanismus und Physiologie der Geschlechtsbestimmung. Bornträger, Berlin. 1920. — Ders., Untersuchungen zur Entwicklungsphysiologie des Flügelmusters der Schmetterlinge. I. Arch. f. Entw.-Mech. 27. 1920. — Grassi, B., I progenitori dei Miriapodi e degli insetti. Mem. Z. Acc. Lincei, Mem. cl. sc. fis. Ser. 4. Vol. 4. 1897. — Harrison, I. W. H., Genetical studies in the moths of the geometrid genus *Oporabia* (*Oporinia*). Journ. of Genetics. 9. 1920. — Hein, S. A. Arendsen, Technical experiences in the breeding of *Tenebrio molitor*. Proc. Kon. Ak. Wetensch. Amsterdam. 2, 3. 1920. — Heymons, R., Die Entwicklung der weiblichen Geschlechtsorgane von *Phyllodromia* (*Blatta*) *germanica* L. Zeitschr. wiss. Zool. 53. 1891. — Ders., Die verschiedenen Formen der Insektenmetamorphose. Ergebn. u. Fortschr. d. Zool. 1. 1909. — Schulze, P., Über nachlaufende Entwicklung (Hysterotelia) einzelner Organe bei Schmetterlingen. Arch. Naturgesch. 88. 1911. — Weinland, E., Über die Stoffumsetzungen während der Metamorphose der Fleischfliege (*Calliphora vomitoria*). Zeitschr. Biol. 47. 1906.